

**MARIA FERNANDA S. SOARES**

**ESTUDO MORFOLÓGICO E DAS CLASSIFICAÇÕES DAS  
GLOMERULONEFRITES NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO  
EM NEFRITE LÚPICA SUBCLÍNICA**

Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de Mestre.  
Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia, Parasitologia e Patologia,  
Setor de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Ederaldo  
Queiroz Telles

**CURITIBA**

**2005**

**MARIA FERNANDA S. SOARES**

**ESTUDO MORFOLÓGICO E DAS CLASSIFICAÇÕES DAS  
GLOMERULONEFRITES NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO  
EM NEFRITE LÚPICA SUBCLÍNICA**

Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de Mestre.  
Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia, Parasitologia e Patologia,  
Setor de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Ederaldo  
Queiroz Telles

**CURITIBA**

**2005**

Soares, Maria Fernanda S.

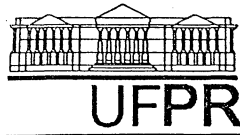
Estudo morfológico e das classificações das glomerulonefrites no lupus eritematoso sistêmico em nefrite lúpica subclínica / Maria Fernanda S. Soares. Curitiba, 2005.

77 f.

Orientador: Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles

Dissertação (Mestrado) - Microbiologia, Parasitologia e Patologia. Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

1. **Nefrite lúpica.** 2. Patologia - classificação. 3. Lupus eritematoso sistêmico. I. Título. II. Telles, Ederaldo Queiroz

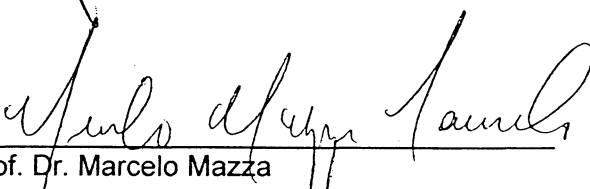


Ministério da Educação e Desporto  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
**SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SETOR DA SAÚDE**  
Departamentos de Patologia Básica e Patologia Médica  
Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia

### ATA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

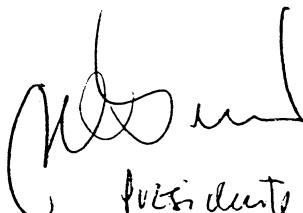
Aos doze dias do mês de abril de dois mil e cinco, às quatorze horas, na Sala de Reuniões 1 do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, reuniu-se a Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado de autoria da Pós-Graduanda em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Maria Fernanda Sanches Soares, intitulada "Estudo Morfológico e das Classificações das Glomerulonefrites no Lupus Eritematoso Sistêmico em Nefrite Lúpica Subclínica", sob a orientação do Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles e a Banca Examinadora constituída pelos Professores: Dr. Luiz Antonio Moura (EPM/UNIFESP), Dr. Marcelo Mazza (~~PEPAR~~), Dr. Renato Valente de Almeida (Serviço de Nefrologia – HC/UFPR) e Dr<sup>a</sup> Iara de Messias Reason (Serviço de Imunopatologia – HC/UFPR), suplente. A Banca Examinadora iniciou os trabalhos. A candidata teve 60 (sessenta) minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em seguida argüida durante 30 (trinta) minutos por cada um dos membros da Banca Examinadora, e tendo 30 (trinta) minutos para responder a cada uma das arguições. No final a candidata foi aprovada, segundo a avaliação da Banca Examinadora de Dissertação. Para a devida publicação, o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a sessão, da qual foi lavrada a presente ata que será assinada pelo Presidente e pelos demais Membros da Banca Examinadora, em Curitiba, 12 de abril de 2005.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luiz Antonio Moura

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcelo Mazza

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Renato Valente de Almeida

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Iara de Messias Reason - suplente

  
\_\_\_\_\_  
Presidente  
Banca

*Summa Scientia, nihil scire  
Nihil scire, omnia posse.*

Christian Rosencreuz

Este trabalho é dedicado a meus  
pais, Helcio Bertolozzi Soares e  
Maria Conceição Sanches Soares

## **AGRADECIMENTOS**

- À Prof. Dra. Vanete Thomaz Soccol, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, pelo seu exemplo acadêmico, dinamismo e dedicação.
- Ao Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles, por sua disposição a orientar este trabalho, seu incentivo, prontidão e amizade.
- À Bióloga Fádua Alessandra Queiroz Barbosa, sem cuja competência, amizade e disposição este trabalho não teria sido concretizado.
- Ao Dr. Renato Valente de Almeida pela amizade, apoio e constante assessoria na execução deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Marcello Fabiano Franco e ao Prof. Dr. Luiz Antonio Moura, da Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina pelas inestimáveis contribuições ao meu aprendizado e crescimento.
- Aos Professores da Disciplina de Nefrologia, Dr José Gastão Rocha de Carvalho, Dr Rogério Andrade Mulinari, Dr Plauto Piazza Branco e Dr Sergio Godoy Marks pelo estímulo ao estudo da Nefropatologia.
- Ao Prof. Ney Mattoso, Prof. Dorly de Freitas Buchi, Prof. Claudio de Paula Soares Greca e equipe do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná pela valiosa orientação nos trabalhos em ultraestrutura.
- À Prof. Yara de Messias Reason, Prof. Shirley Utiyama. Dr Renato Nisihara e Dr Valmir Mocellin, do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná pela colaboração na realização dos exames de microscopia imunofluorescência e sua documentação fotográfica.
- Aos técnicos em histologia Maurício de Oliveira e André Alex Antunes pelo trabalho esmerado de confecção dos cortes e colorações das preparações histológicas utilizadas no presente estudo.
- À Sra. Ângela da Matta Silveira Martins, do IPARDES, autora da análise estatística deste trabalho.
- Ao Dr Antonio de Padua Gomes da Silva, pelos anos de amizade, apoio e aprendizado.
- Aos amigos do Laboratório Citolab, por seu incentivo e colaboração.

- Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia pela amizade e pelo espírito de grupo ao longo desses dois anos.
- Aos pacientes portadores de lupus eritematoso sistêmico, razão de nossa constante superação.
- Finalmente, mas não menos importante, aos meus pais, irmãos, avó e ao Victor Cesar, pelas horas roubadas de seu convívio, seu amor incondicional, paciência e companheirismo.



## SUMÁRIO

<b>LISTA DE QUADROS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>xii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
2.1. ASPECTOS HISTÓRICOS, DEMOGRÁFICOS E FISIOPATOLÓGICOS NO LES .....	2
2.2. A BIÓPSIA RENAL NA AVALIAÇÃO DA NEFRITE LÚPICA .....	5
2.3. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA BIÓPSIA RENAL .....	7
2.3.1. Microscopia óptica .....	7
2.3.2. Microscopia de imunofluorescência .....	9
2.3.3. Microscopia eletrônica .....	11
2.4. METANÁLISE DAS CLASSIFICAÇÕES DAS GLOMERULONEFRITES NO LES .....	12
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
4.1. CASUÍSTICA .....	23
4.2. BIÓPSIA RENAL .....	23
4.2.1. Microscopia óptica .....	24
4.2.2. Microscopia de imunofluorescência .....	25
4.2.3. Microscopia eletrônica .....	25
4.3. DADOS DOS PRONTUÁRIOS .....	27
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	27
4.5. SUBSÍDIOS .....	28
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>29</b>
5.1. DADOS DEMOGRÁFICOS .....	29

5.2. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS .....	30
5.3. ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS .....	31
5.4. SEGUIMENTO E EVOLUÇÃO DA DOENÇA .....	39
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
6.1. DADOS DEMOGRÁFICOS .....	41
6.2. DADOS CLÍNICOS .....	41
6.3. ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS .....	42
6.4. SEGUIMENTO E EVOLUÇÃO DA DOENÇA .....	44
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>46</b>
<b>GLOSSÁRIO DE TERMOS UTILIZADOS EM PATOLOGIA RENAL .....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO 1 – METODOLOGIA DO PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO MANUAL DE ROTINA .....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO 2 – METODOLOGIA DO PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA MICROSCOPIA DE IMUNOFLUORESCÊNCIA .....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO 3 – METODOLOGIA DO PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA .....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO 4 – METODOLOGIA DO PROCEDIMENTO PARA DESPARAFINIZAÇÃO DE MATERIAL HISTOLÓGICO PARA EXAME ULTRAESTRUTURAL .....</b>	<b>62</b>

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS GLOMERULONEFRITES NO LES, OMS, 1974 .....	13
QUADRO 2 - ÍNDICES DE ATIVIDADE EM NEFRITE LÚPICA .....	16
QUADRO 3 - ÍNDICES DE CRONICIDADE EM NEFRITE LÚPICA .....	16
QUADRO 4 - CLASSIFICAÇÃO DAS GLOMERULONEFRITES NO LES, OMS/ISKDC, 1982 .....	17
QUADRO 5 - CLASSIFICAÇÃO DAS GLOMERULONEFRITES NO LES, ISN/RPS, 2003 .....	20

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- IDADE ATUAL, IDADE AO INÍCIO DA DOENÇA, IDADE À BIÓPSIA E IDADE AO ÓBITO. TEMPO DE DURAÇÃO DA DOENÇA NOS PACIENTES AVALIADOS .....	29
TABELA 2	- NÚMERO DE ÓRGÃOS / SISTEMAS COMPROMETIDOS .....	30
TABELA 3	- DADOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E ANATOMOPATOLÓGICOS DOS PACIENTES ANALISADOS .....	32
TABELA 4	- SENSIBILIDADE E VALOR PREDITIVO NEGATIVO DAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS UTILIZADAS .....	36
TABELA 5	- ALOCAÇÃO DOS CASOS CONFORME AS CLASSIFICAÇÕES DA OMS MODIFICADA, OMS, 1995 E ISN/RPS, 2003 .....	37
TABELA 6	- DADOS DAS PACIENTES EM QUE HOUVE INSTALAÇÃO DE NEFRITE CLINICAMENTE APARENTE .....	40

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	- ESQUEMA EXPLICATIVO: FOCAL X DIFUSO E SEGMENTAR X GLOBAL .....	8
FIGURA 2	- FOTOMICROGRAFIA POR MICROSCOPIA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA. DEPÓSITOS LINEARES DE IG A, EM ALÇAS CAPILARES, DE MODERADA INTENSIDADE. FITC, 400 X. ....	11
FIGURA 3	- FOTOMICROGRAFIA POR MICROSCOPIA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA. DEPÓSITOS GRANULARES MESANGIAIS DE IG M, DE MODERADA INTENSIDADE. FITC, 400 X. ....	11
FIGURA 4	- GLOMÉRULO NORMAL À MICROSCOPIA ÓPTICA. PAS COM DIASTASE, 200 X .....	14
FIGURA 5	- GLOMERULONEFRITE MESANGIAL. PAS COM DIASTASE, 200 X .....	14
FIGURA 6	- GLOMERULONEFRITE MESANGIAL. PAMS, 200 X .....	14
FIGURA 7	- GLOMERULONEFRITE PROLIFERATIVA. LESÃO SEGMENTAR. HE, 200 X .....	15
FIGURA 8	- GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA. PAMS, 1000 X .....	15
FIGURA 9	- GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA. DEPÓSITOS FUCSINOFÍLICOS. TRICRÔMICO DE MASSON, 1500 X .....	15
FIGURA 10	- DEPÓSITOS ELETRONDENSOS MESANGIAIS. 8000 X .....	26
FIGURA 11	- DEPÓSITOS ELETRONDENSOS SUBENDOTELIAIS E INTRAMEMBRANOSOS. 12 000 X .....	26
FIGURA 12	- DEPÓSITOS ELETRONDENSOS INTRAMEMBRANOSOS. 15000 X .....	26
FIGURA 13	- DETALHE DE DEPÓSITO ELETRONDENSO INTRAMEMBRANOSO. 60 000 X .....	26
GRÁFICO 1	- NÚMERO DE ÓRGÃOS / SISTEMAS COMPROMETIDOS .....	30
GRÁFICO 2	- SENSIBILIDADE E VALOR PREDITIVO NEGATIVO DAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS UTILIZADAS. ....	36

GRÁFICO 3 - ALOCAÇÃO DOS CASOS NA CLASSIFICAÇÃO DA OMS MODIFICADA .....	38
GRÁFICO 4 - ALOCAÇÃO DOS CASOS NA CLASSIFICAÇÃO DA OMS, 1995 .....	38
GRÁFICO 5 - ALOCAÇÃO DOS CASOS NA CLASSIFICAÇÃO DA ISN/RPS, 2003 .....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA	- Anticorpos anti-nucleares
C3a/C 5a	- Frações 3 a e 5 a do complemento
CH 50	- Complemento hemolítico total
DNA	- Ácido desoxirribonucléico
Ds-DNA	- Ácido desoxirribonucléico de fita dupla
Fc	- Fração constante da molécula de imunoglobulina
FITC	- Isotiocianato de fluoresceína
GN	- Glomerulonefrite
HE	- Hematoxilina-eosina
IF	- Imunofluorescência
IgA	- Imunoglobulina A
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
ISKDC	- International Study of Kidney Diseases in Children (Estudo Internacional de Doenças Renais em Crianças)
ISN	- International Society of Nephrology (Sociedade Internacional de Nefrologia)
LES	- Lupus eritematoso sistêmico
ME	- Microscopia eletrônica
MO	- Microscopia óptica
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PAS	- Ácido periódico de Schiff
PAMS	- Ácido periódico de Schiff / prata metenamina
PBS	- Tampão fosfato
PE	- Ficoeritrina
RNP	- Ribonucleoproteínas
RPS	- Renal Pathology Society (Sociedade de Patologia Renal)
Sm	- Antígeno Smith
SNC	- Sistema nervoso central
TVP	- Trombose venosa profunda
TRITC	- Isotiocianato de tetrametilrodamina

## RESUMO

O lupus eritematoso sistêmico (LES) é doença autoimune e multissistêmica de apresentação variável. O envolvimento renal clinicamente aparente pelo lupus eritematoso sistêmico (LES) ocorre em 40 a 75% dos pacientes. Entretanto, alterações histológicas renais são observadas em até 90-100% dos pacientes. Define-se como nefrite lúpica subclínica o encontro de anormalidades histológicas renais em pacientes livres de comprometimento clínico-laboratorial. Nesses pacientes, a descrição dos achados anatomopatológicos e a correlação clínico-laboratorial são pobres e inconsistentes. A fim de caracterizar as lesões renais nesse grupo de pacientes, e avaliar o papel da biópsia renal e das técnicas histológicas atualmente disponíveis, foram avaliados 25 indivíduos portadores de LES sem evidências de comprometimento renal clínico ou laboratorial, em acompanhamento no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Observou-se anormalidades histológicas à microscopia óptica em 68% dos casos, à microscopia de imunofluorescência em 88% dos casos e à microscopia eletrônica em 40% dos casos. A maior parte dos pacientes apresentou lesões categorizáveis nas classes II e V da classificação da OMS modificada, nas classes Ib, II e V da classificação da OMS, 1995 e nas classes I, II e V da classificação proposta pela Sociedade Internacional de Nefrologia e Sociedade de Patologia Renal (ISN/RPS), 2003. A combinação das técnicas de microscopia óptica, eletrônica e de imunofluorescência resultou em 100% de sensibilidade e valor preditivo negativo. Contudo, os achados anatomopatológicos isoladamente não são capazes de prever o curso da doença, sendo a indicação de biópsia discutível e devendo ser orientada por estudos funcionais, avaliação laboratorial e acompanhamento clínico cuidadoso.

**Palavras-chave:** Nefrite lúpica, Patologia, Classificação



## ABSTRACT

Systemic lupus erithematosus (SLE) is a multisystem autoimmune disease of variable presentation. Overt renal disease occurs in 40 a 75% of the patients. However renal histological abnormalities may be observed in up to 90-100% of the patients. Subclinical lupus nephritis is defined as the finding of renal histological abnormalities in patients free from clinical and laboratorial evidence of renal involvement. In this group of patients the description of the pathological abnormalities and their correlation with the clinical and laboratorial findings are inconsistent and poor. Twenty five renal biopsies of patients with subclinical lupus nephritis were analised in order to characterize the renal lesions and assess the role of the renal biopsy and the available histological techniques. Light microscopy (LM) revealed abnormalities in 68% of the cases; immunofluorescence microscopy (IF) revealed immunocomplex deposits in 88% of the cases and ultrastructural abnormalities were present in 40% of the cases. Most patients had lesions classifiable as classes II e V of WHO, modified classification scheme, classes Ib, II e V of WHO, 1995 classification scheme and classes I, II e V of the proposed ISN/RPS, 2003 classification scheme. The combination of the findings of LM,EM and IF yielded 100% sensitiviyy and negative predictive value. Nevertheless pathological findings cannot isolatedly predict the course of the disease. Thus the indication of biopsy in this group of patients remains questionable and must rely on laboratory and functional studies and on careful follow up.

Key words: Lupus nephritis, Pathology, Classification

## 1. INTRODUÇÃO

O envolvimento renal clinicamente aparente pelo lupus eritematoso sistêmico (LES) ocorre em 40 a 75% dos pacientes. Entretanto, alterações histopatológicas renais são observadas em até 90-100% dos pacientes (FONT *et al.*, 1987, GONZALEZ-CRESPO, *et al.*, 1996). Portanto, ainda que livres de manifestações clínico-laboratoriais, alguns pacientes podem apresentar evidências de nefrite à biópsia renal. Tal situação denomina-se nefrite lúpica subclínica. As alterações histopatológicas nos portadores de nefrite lúpica subclínica são usualmente leves, porém, casos de glomerulonefrite proliferativa e de outras alterações, geralmente relacionadas a um prognóstico mais reservado, já foram registrados (MAHAJAN *et al.*, 1977; LEEHEY *et al.*, 1982; GRISHMAN *et al.*, 1973; FONT *et al.*, 1987; GONZALEZ-CRESPO *et al.*, 1996). Conseqüentemente, a extensão e o significado dos achados histopatológicos nesses pacientes são controversos e põem em questão a relevância da biópsia renal e a necessidade de terapia nesse grupo.

Este estudo pretende analisar as características histopatológicas da nefrite lúpica subclínica, utilizando-se as técnicas de microscopia óptica, microscopia de imunofluorescência e microscopia eletrônica. Ainda, objetiva-se avaliar o papel de cada uma das técnicas supracitadas na caracterização das alterações encontradas. Realizamos uma revisão do histórico das classificações das glomerulonefrites no LES, classificando os achados histopatológicos conforme os esquemas classificatórios da Organização Mundial da Saúde (OMS) modificado e OMS, 1995 e o esquema proposto pela Sociedade Internacional de Nefrologia (ISN) e pela Sociedade de Patologia Renal (RPS) em 2003. Finalmente, procuramos estabelecer uma correlação entre os achados histopatológicos e os dados clínico-laboratoriais iniciais e ao longo do seguimento dos pacientes portadores de nefrite lúpica subclínica.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. ASPECTOS HISTÓRICOS, DEMOGRÁFICOS E FISIOPATOLÓGICOS NO LES

O termo “lupus”, empregado desde o século XII por autores como ROGERIUS e PARACELSO, descrevia qualquer doença cutânea que cursasse com ulceração e perda tecidual. O termo “lupus erithémateux” surgiu apenas em 1833, proposto por CAZENAVE, conforme sugestão de BIETT. Moritz KAPOSI foi o primeiro a observar que as alterações cutâneas poderiam denotar doença sistêmica, por estarem por vezes associadas a pleuropercardite, alterações neurológicas, coma e morte. Na década de 1890, OSLER descreveu o envolvimento visceral, inclusive renal, pelo lupus eritematoso. Importantes avanços na caracterização e compreensão da doença renal no LES ocorreram nas décadas de 20 a 40 do século XX. Os primeiros trabalhos descrevendo a doença renal e características histopatológicas renais *post mortem* foram realizados por KEITH e ROWNTREE em 1922 e por BAEHR *et al.* em 1935. Em 1941, lançou-se a definição moderna da nefrite lúpica, mais uma vez através de estudos *post mortem*, realizados por KLEMPERER *et al.* Em 1957, MUEHRCKE *et al.* descreveram o espectro completo dos aspectos à microscopia óptica da nefrite lúpica (citados por CAMERON, 1997).

O LES é hoje reconhecido como uma doença auto-imune multissistêmica de etiologia e patogênese ainda não totalmente elucidadas. Diferentes eventos imunológicos podem culminar numa via final comum, que é a produção de auto-anticorpos dirigidos a antígenos nucleares, resultando em uma gama de manifestações clínicas. O envolvimento de múltiplos órgãos e sistemas, incluindo ossos e articulações, serosas (pleura e pericárdio particularmente), pele, coração, pulmões, trato gastrointestinal, órgãos hemolinfopoiéticos, fígado, rins e sistema nervoso central, é o responsável pelos múltiplos aspectos assumidos pela doença (CAMERON, 1997; ADLER, COHEN e GLASSOCK, 1998).

A prevalência do LES varia de 12 a 51 pacientes a cada 100 000 indivíduos, conforme a série estudada. A incidência da doença também é variável, oscilando de

1,8 a 7,6 novos casos a cada 100 000 indivíduos por ano. O sexo feminino é mais comumente comprometido. A razão de comprometimento mulher:homem é de 2:1 na idade pré-puberal, elevando-se a 4,5:1 na adolescência e 8-12:1 na idade adulta. Após os 60 anos, registra-se queda dessa razão novamente para 2:1. Tais dados encontram apoio em modelos murinos de lupus, em que o fenótipo feminino e a presença de estrogênios são fatores precipitantes da doença clinicamente aparente (CAMERON, 1997; ADLER, COHEN e GLASSOCK, 1998; COOPER e STROEHLA, 2003).

O desenvolvimento de auto-imunidade no LES pode ser atribuído à perda de auto-tolerância, devido a deleção ou silenciamento inadequado de linfócitos auto-reativos. Ainda, distúrbios da apoptose e a remoção incompleta dos resíduos de células apoptóticas poderiam contribuir para o desenvolvimento de auto-imunidade, por causar exposição prolongada do sistema imunológico a esses componentes (ABRASS, 1997). Entre os principais auto-anticorpos detectáveis figuram anticorpos antinucleares (ANAs), anticorpos anti-DNA de fita dupla nativo (anti-ds-DNA), anticorpos anti-ribonucleoproteínas (anti-RNP), anticorpos anti-histonas e anticorpos anti-antígeno Smith<sup>1</sup>. Anticorpos antinucleares são usualmente da classe IgG e são detectados por técnicas de imunofluorescência indireta, cuja sensibilidade pode ser aumentada escolhendo-se cuidadosamente o substrato e pelo uso de reagentes-padrão. Os anticorpos dirigidos contra ds-DNA e antígeno Smith são particularmente associados à presença de nefrite; enquanto a presença do primeiro é condição quase *sine qua non* para o diagnóstico de LES, o segundo é prevalente em apenas 15-50% dos pacientes com LES, principalmente quando de origem afro-caribenha, porém, altamente específicos. (ADLER, COHEN e GLASSOCK, 1998).

---

<sup>1</sup> Anticorpos dirigidos a quatro principais antígenos ribonucleres (Sm, nRNP, Ro/SSA e La/SSB) estão presentes em portadores de LES. Dois desses antígenos (Sm e nRNP) são derivados de um antígeno nuclear extraível (ENA), ribonuclease-sensível, do timo de vitelo. O anti-Sm precipita-se em cinco pequenas subunidades, com suas proteínas nucleares associadas, de função desconhecida, provavelmente envolvidas no "splicing" do RNA. Estudos sugerem a associação da positividade dos anti-ENAs com maior risco de doença renal e do sistema nervoso central. (ADLER, COHEN e GLASSOCK, 1998).

Do ponto de vista conceitual e prático, a imunopatogênese renal básica compreende o acúmulo e deposição de imunocomplexos circulantes pré-formados ou a ligação de auto-anticorpos a antígenos plantados nas paredes vasculares. A presença dos auto-anticorpos pode levar a injúria tissular e celular por ligação da porção Fc ao complemento e ação citotóxica direta. O sítio de deposição dos imunocomplexos ou dos antígenos plantados depende primariamente do seu tamanho, composição e carga elétrica e da função fagocitária. Depósitos mesangiais e subendoteliais geralmente compreendem grandes complexos intactos ou antígenos aniônicos. Tais depósitos têm acesso ao espaço vascular e, portanto, levam à ativação do complemento e à geração de C3a e C5a, resultando no influxo de linfomononucleares e polimorfonucleares. Estudos experimentais sugerem que tais depósitos derivem de imunocomplexos formados na circulação. Depósitos subepiteliais se encontram distalmente à membrana basal glomerular, sendo formados a partir de antígenos catiônicos capazes de cruzar a membrana basal ou por meio de auto-anticorpos dirigidos a antígenos do epitélio visceral. Tais complexos podem ativar complemento, porém sem causar influxo leucocitário. Eventos vasculares inflamatórios e trombóticos podem se sobrepor à injúria tissular quando os auto-anticorpos apresentam atividade anti-fosfolípide ou de crioglobulina (KASHGARIAN, 1997; ROSE, APPEL e SCHUR, 2003).

O acometimento renal em portadores de LES é importante causa de agravamento de morbidade e mortalidade, pois sobrepõe hipertensão arterial, síndrome nefrótica e insuficiência renal ao quadro clínico. A prevalência real do envolvimento renal no LES é desconhecida, variando consideravelmente conforme critérios clínicos de diagnóstico, indicações de biópsia e seguimento dos pacientes (WOOLF *et al.* 1979). Estima-se que a nefrite lúpica comprometa até 75% dos pacientes portadores de LES. A maioria das anormalidades renais emerge 6 a 36 meses após o diagnóstico de LES, porém, até 50% dos pacientes com nefrite lúpica podem apresentar urinálise anormal, acompanhada ou não de elevação dos níveis de creatinina ao diagnóstico inicial do LES (ROSE, APPEL e SCHUR, 2003). Tais números se encontram baseados no achado de urinálise anormal, critério considerado como o mais fidedigno para rastreamento de pacientes portadores de LES candidatos à biópsia renal. Proteinúria é a anormalidade à urinálise mais

freqüentemente observada nos pacientes com evidência clínico-laboratorial de comprometimento renal (80% dos casos), principalmente em pacientes idosos ou crianças. Hematúria e leucocitúria poderão incidir em até 40% dos pacientes com sinais clínico-laboratoriais de comprometimento renal (RIVERA, LOPEZ-GOMEZ e PEREZ-GARCIA, 2004). No entanto, segundo RASOULPOUR *et al.* (1996), o rastreamento de pacientes com acometimento renal pelo LES através da urinálise subestima a real freqüência de doença renal, pois são comuns as alterações histopatológicas renais em pacientes com urinálise normal (falso negativa) e com níveis séricos de creatinina dentro dos limites da normalidade. Portanto, a incidência de doença renal no LES pode ser maior que 90%, uma vez que, biópsias renais de pacientes sem evidências clínico-laboratoriais de doença renal freqüentemente revelam glomerulonefrite mesangial ou glomerulonefrite proliferativa focal ou difusa. Tal fato poderia estimular o emprego precoce da biópsia renal em pacientes portadores de LES, principalmente adultos, com manifestações iniciais de comprometimento renal.

## 2.2. A BIÓPSIA RENAL NA AVALIAÇÃO DA NEFRITE LÚPICA

A avaliação e condução clínica dos pacientes com suspeita de nefrite lúpica são grandemente facilitadas através das informações fornecidas pela biópsia renal. Ainda que alguns clínicos defendam a posição que as informações clínicas e os dados laboratoriais sejam suficientes para determinar a presença de envolvimento renal significativo, o favorável risco/benefício de se realizar a biópsia renal em pacientes lúpicos é fator de aceitação desse procedimento nesse grupo de pacientes. A biópsia renal pode ser utilizada para confirmar a presença de comprometimento renal, avaliar o grau de atividade e o estadio de cronicidade da doença, determinar seu prognóstico e orientar a terapêutica mais adequada. Em nefrite lúpica, o objetivo primário da biópsia é identificar os pacientes com maior risco de desenvolver doença renal progressiva, requerendo intervenção terapêutica agressiva (GRANDE e BALOW, 1998; AUSTIN *et al.*, 1994; YOO, KIM e LEE, 2000; NAJAFI e KORBET, 2001; ROSE, 2003; ROSE, APPEL e SCHUR, 2003; ISEKI

*et.al*, 2004). O quadro renal apresenta grande heterogeneidade morfológica e clínica, com a possibilidade de evolução de um padrão de lesão a outro. Em adição, a correlação dos achados clínicos e laboratoriais é pobre e variável. Há evidências que a extensão e o padrão de distribuição de depósitos eletrondensos, de imunoglobulinas e complemento têm melhor correlação com achados clínicos e sorológicos (ADLER, COHEN e GLASSOCK, 1998).

Com relação aos portadores de nefrite lúpica subclínica, a maioria dos estudos realizados concentrou-se na determinação de marcadores laboratoriais funcionais e inflamatórios de diminuição da função renal. Microalbuminúria e hiperfiltração glomerular constituem um sinal precoce de comprometimento renal (ALMEIDA, 1998; KIM e JEONG, 2003). Os escassos trabalhos realizados enfocando os achados histopatológicos revelam notável inconsistência dos achados morfológicos. MUEHRCKE (1957) demonstrou casos de glomerulonefrite sem instalação de proteinúria. Seu estudo sugeriu que, em adultos, a correlação entre achados clínico-laboratoriais e achados anatomopatológicos é pobre em uma avaliação inicial. HOLLICRAFT, DU BOIS e LUNDBERG (1976), estudaram 12 pacientes com *clearance* de creatinina e excreção proteica urinária normais. Anormalidades leves a moderadas foram registradas em todos os pacientes. Onze (11) dos pacientes apresentaram anormalidades à microscopia óptica, ainda que de caráter inativo. A microscopia de imunofluorescência foi positiva em 8 dos 12 casos, com distribuição focal ou difusa de IgG, IgM e/ou C3. Alterações à microscopia eletrônica foram observadas em todos os casos e incluíram hiperplasticidade glomerular, espessamento de membrana basal, fusão de processos podócitos e depósitos eletrondensos intramembranosos. Não foram observados depósitos subepiteliais ou subendoteliais. Em suma, biópsia renal livre de alterações em portadores de LES foi considerada a exceção, nesse estudo. O estudo de MAHAJAN *et al.*, (1977), identificou portadores de nefrite lúpica incipiente com lesões proliferativas focais e difusas, numa série de 27 pacientes. O seguimento clínico evidenciou evolução para lesões difusas em 3 dos 12 portadores de lesões focais. Tais resultados indicariam que lesões proliferativas difusas poderiam estar presentes antes da evidência clínica de doença renal e que nenhum parâmetro clínico ou laboratorial seria um marcador fidedigno da presença de

comprometimento renal. Mais tarde, BENNETT *et al.* (1982) demonstraram três pacientes com glomerulonefrite proliferativa difusa e cinco pacientes portadores de depósitos subendoteliais em série de 20 pacientes livres de manifestações clínico-laboratoriais de doença renal. Porém, o seguimento clínico revelou uma sobrevida livre de doença renal clinicamente aparente superior a 60% em 10 anos. Tais observações foram reproduzidas por e O'DELL *et al.*, (1985), que descreveram alterações mesangiais à microscopia óptica e de imunofluorescência, em uma série de 11 pacientes com doença subclínica, os quais permaneceram livres de sinais de progressão para doença ativa nos 6,3 anos em que foram seguidos. Tais estudos categorizaram o caráter das lesões renais em pacientes portadores de nefrite lúpica subclínica como silenciosas e estacionárias, colocando em questão a necessidade e a validade da biópsia renal, nesses pacientes. Para esclarecimento da controvérsia gerada, BLANCO *et al.* (1994) revisaram 85 biópsias renais de pacientes com ou sem nefrite lúpica clinicamente evidente, cotejando os achados com dados clínicos, laboratoriais e de sobrevida dos pacientes. Segundo o estudo, lesões mínimas e depósitos mesangiais estariam correlacionados com melhor prognóstico das lesões; hialinose, atrofia tubular, esclerose glomerular e depósitos subepiteliais estariam correlacionados com prognóstico mais reservado.

A variabilidade dos tipos morfológicos, a escassez de dados bibliográficos e a questionável necessidade de diagnóstico histopatológico e medidas terapêuticas padrão, foram fatores identificados na literatura e que suscitaram esse estudo.

## 2.3. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA DOENÇA RENAL

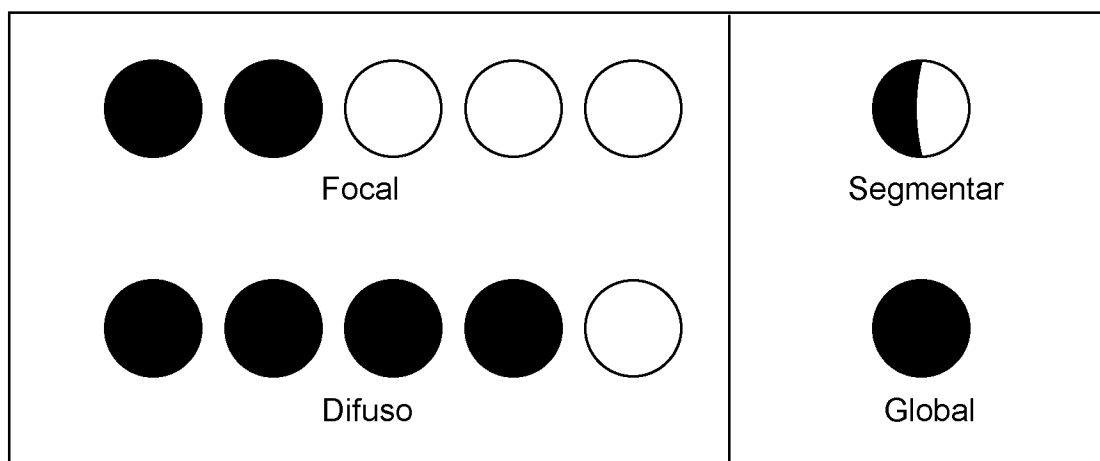
A avaliação ideal de uma biópsia renal envolve o exame do fragmento tissular sob microscopia óptica, eletrônica e de imunofluorescência.

### 2.3.1. Microscopia óptica



A microscopia óptica é capaz de identificar lesões proliferativas mesangiais, endoteliais e epiteliais; esclerose mesangial, áreas de hialinização glomerular, lesões trombóticas, necrose e infiltração leucocitária. É através da microscopia óptica que as lesões elementares renais são caracterizadas. A terminologia é tão importante quanto a descrição das lesões. O termo *focal* implica em doença afetando menos de 50% da população glomerular total. *Difuso*, em contraste, significa doença afetando 50% ou mais da população glomerular em questão. *Segmentar* refere-se à lesão que afeta apenas uma porção de um glomérulo e *global* descreve lesões que comprometem o glomérulo todo (PIRANI, SALINAS-MADRIGAL e KOSS, citados por STRIKER, STRIKER e D'AGATI, 1997)<sup>2</sup>

FIGURA 1 - ESQUEMA EXPLICATIVO: FOCAL X DIFUSO E SEGMENTAR X GLOBAL



FONTE: STRIKER, STRIKER E D'AGATI, 1997

Com a finalidade de adequadamente avaliar a presença de lesões e excluir a possibilidade de focalidade das mesmas, preconiza-se o preparo de 4 a 6 seções a cada 8 a 10 lâminas, as quais são coradas pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS), tricrômico de Masson e impregnação pela prata (Jones ou PAMS). A HE fornece uma boa visão geral da arquitetura glomerular e intersticial e é a melhor coloração para a identificação das células inflamatórias nos compartimentos renais. O PAS marca as glicoproteínas das

<sup>2</sup> PIRANI, C.L.; SALINAS-MADRIGAL, L.; KOSS, M. Evaluation of percutaneous renal biopsy. In SOMMER, S.C. (ed.): **Kidney pathology decennial**. New York, Appleton-Century-Crofts, 1975, p. 109-163.

membranas basais. É particularmente útil para avaliar espessamentos das membranas basais e a deposição de matriz extracelular associada a lesões proliferativas ou esclerosantes. O tricrômico delinea a extensão da fibrose, glomeruloesclerose, lesões hialinizantes e depósitos imunes delicados ao longo das alças capilares glomerulares. As técnicas de impregnação pela prata reforçam as membranas basais e são de grande utilidade na identificação de rupturas, duplicações, espessamentos ou formação de espículas nessas estruturas (STRIKER, STRIKER e D'AGATI, 1997; GRANDE e BALOW, 1998; FOGO, 2003).

### 2.3.2. Microscopia de imunofluorescência

O envolvimento dos mecanismos imunológicos na patogênese das lesões renais foi sugerido em 1911 por VON PIRQUET e confirmado pelos primeiros estudos com microscopia de imunofluorescência em tecido renal. A imunofluorescência é uma técnica de imunohistoquímica bem estabelecida, utilizada desde a década de 1940 para detectar uma grande variedade de antígenos em tecidos ou células em suspensão, tendo sido integrada à rotina diagnóstica de doenças imunomediadas (COLLINS, 1997).

A microscopia de imunofluorescência baseia-se na capacidade de moléculas como a fluoresceína de apresentarem elétrons prontamente excitáveis a estados instáveis de maior energia, através da absorção de fótons de luz. Ao retornar a seus estados de energia mais estáveis, os elétrons emitem a energia estocada na forma de luz, porém, com maior comprimento de onda do que a luz previamente absorvida, sendo emitida como luz fluorescente (COLLINS, 1997).

O tecido para imunofluorescência deve ser obtido fresco e mantido úmido até ser rapidamente congelado. Soluções conservantes, como o meio de Michel<sup>3</sup>, podem ser empregadas caso seja necessário o transporte do espécime. Há duas técnicas básicas para a realização da imunofluorescência: direta e indireta. O método direto é um procedimento de um passo em que um marcador fluorocromo é

---

<sup>3</sup> Solução de uso para transporte de amostras a serem submetidas a investigação imunopatológica, que contém em sua formulação solução tamponada de citrato de potássio pH7,0, sulfato de magnésio e N-metilmaleimida à qual se adiciona sulfato de amônia (RUIZ, FAJARDO e HERNANDEZ, 2002).

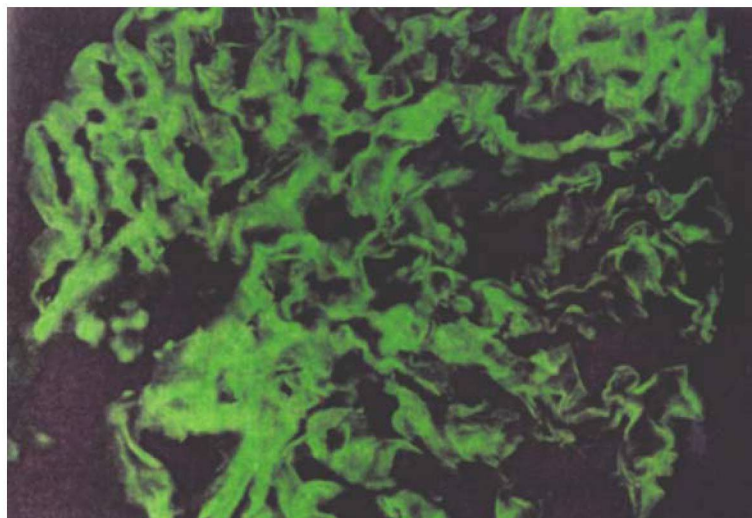
conjugado covalentemente diretamente ao anticorpo primário, o qual deverá reagir com o anticorpo de interesse. O método indireto requer duas incubações: a primeira do anti-soro não marcado ou anticorpo com o substrato que se deseja testar e a segunda compreende a reação do complexo obtido com um anticorpo marcado com um fluorocromo. Os principais fluorocromos utilizados são o FITC (isotiocianato de fluoresceína), TRITC (isotiocianato de tetrametilrodamina) e PE (ficoeritrina) (COLLINS, 1997).

Por volta de 1968, foram reconhecidos dois principais padrões de imunofluorescência em amostras renais e sugeridos os prováveis mecanismos de injúria envolvidos. O primeiro padrão correspondia à deposição linear das imunoglobulinas, possivelmente resultando da ligação de anticorpos a antígenos estruturais da membrana basal glomerular (Figura 2). Um segundo padrão tinha aspecto granular, atribuído a complexos de anticorpos ligados a antígenos não relacionados ao rim (Figura 3). Os principais padrões de deposição de imunoglobulinas são os lineares em membranas basais tubulares ou glomerulares; granulares em alças capilares glomerulares periféricas, mesângio, túbulos, interstício e vasos.

A intensidade da deposição é graduada semiquantitativamente, numa escala que vai de zero (ausente) a 3+ (intensidade máxima). Recomenda-se a utilização de anticorpos anti IgG, IgM, IgA, frações do complemento, fibrinogênio, albumina e cadeias leves *kappa* e *lambda*. Em situações específicas, outros antígenos podem ser investigados, como IgE, properdina e antígenos virais e tumorais. (COLLINS, 1997, GRANDE e BALOW, 1998; FOGO, 2003).

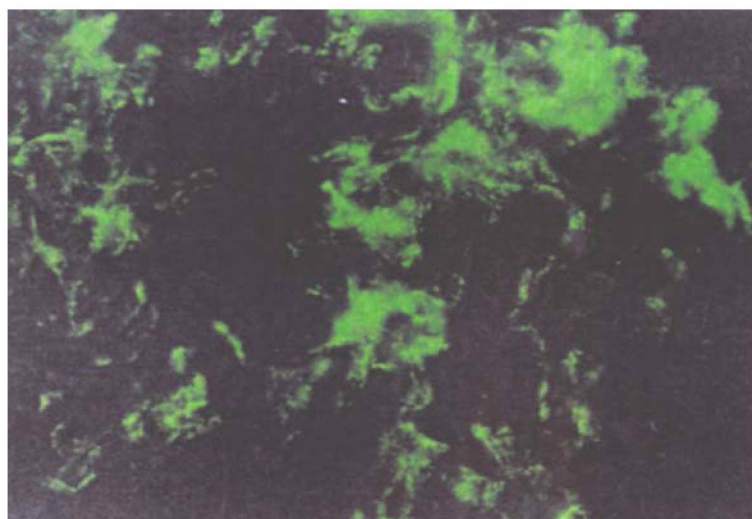
A evanescência da fluorescência após a excitação do fluorocromo é uma das sérias desvantagens da técnica, pois limita a reexaminação das lâminas. Isto se deve principalmente à combinação de reações fotoquímicas, oxidação do fluorocromo e propriedades do conjugado (COLLINS, 1997).

FIGURA 2 - FOTOMICROGRAFIA POR MICROSCOPIA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA. DEPÓSITOS LINEARES DE IGA, EM ALÇAS CAPILARES, DE MODERADA INTENSIDADE. FITC, 400 X



FONTE: A autora. Casuística deste estudo.

FIGURA 3 - FOTOMICROGRAFIA POR MICROSCOPIA DE IMUNOFLOURESCÊNCIA. DEPÓSITOS GRANULARES MESANGIAIS DE IGM, DE MODERADA INTENSIDADE. FITC, 400 X



FONTE: A autora. Casuística deste estudo.

### 2.3.3. Microscopia eletrônica

O microscópio eletrônico tem uma faixa de magnificação de aproximadamente 1000 a 500 000 diâmetros, com resolução útil de toda a faixa. A microscopia eletrônica de transmissão é muito útil no diagnóstico de doenças renais, pois pode claramente documentar a presença, a frequência e as características de depósitos imunes. A justificativa ao uso da microscopia eletrônica de rotina em patologia renal advém de estudos das décadas de 1960 e 1970, que demonstraram informações diagnósticas substanciais e importantes além das obtidas pela microscopia óptica em aproximadamente 50% dos casos. No entanto, tais estudos foram realizados quando a microscopia de imunofluorescência ainda não era uma técnica de uso amplo. HAAS (1997) reavaliou a necessidade da microscopia eletrônica no contexto atual, concluindo que em uma série de 288 biópsias de rins nativos o exame ultraestrutural forneceu informações diagnósticas relevantes e imprescindíveis em 21% dos casos e dados confirmatórios importantes em outros 21%. Segundo HERRERA (1999), a avaliação ultraestrutural adiciona uma importante dimensão à avaliação patológica e fornece informações com impacto direto no manejo dos pacientes. Em se tratando de lupus eritematoso sistêmico, a microscopia eletrônica é capaz de identificar alterações não visualizáveis à microscopia óptica ou de imunofluorescência sugestivas de transformação iminente de uma forma de nefrite para uma outra potencialmente mais agressiva. Tais dados confirmam, pois, os estudos anteriores e dão suporte ao uso continuado da microscopia eletrônica no estudo das doenças renais.

### 2.4. METANÁLISE DAS CLASSIFICAÇÕES DAS GLOMERULONEFRITES NO LES

A interpretação de biópsias renais de pacientes portadores de lupus eritematoso sistêmico é complicada pela marcante variabilidade patológica das lesões. O envolvimento renal pelo LES pode simular o padrão de qualquer glomerulonefrite primária. Pode-se observar lesões variáveis em termos de características morfológicas e distribuição entre pacientes, entre glomérulos dentro de uma amostra ou mesmo dentro de um determinado glomérulo. As lesões

glomerulares podem, ainda, estar acompanhadas de lesões túbulo-intersticiais e vasculares (SILVA, 1983; ANTONOVICH, 1995; APPEL e D'AGATI, 1995, D'AGATI, 1998; FERLUGA *et al.*, 2000; GLASSOCK, 2004).

Com a introdução da biópsia renal como ferramenta de avaliação da extensão e severidade das doenças renais, na década de 1950, e o início da aplicação das técnicas de microscopia de imunofluorescência e eletrônica na década de 1970, houve notável avanço na caracterização dos padrões básicos de comprometimento renal no LES.

A nomenclatura da glomerulonefrite lúpica teve origem nos anos 60, pelas observações de KARK *et al.* (1955), MUEHRCKE *et al.* (1957) e POLLAK e PIRANI (1969), entre outros, culminando, em 1970, com a publicação de BALDWIN *et al.*, em que as lesões glomerulares foram divididas em Proliferativas Focais, Proliferativas Difusas e Membranosas. Em 1973, GRISHMAN descreveu o padrão membranoproliferativo. Tais estudos demonstraram que a evolução da doença estava diretamente relacionada ao grau e extensão de inflamação do compartimento glomerular. Logo se tornou premente a elaboração de um esquema que permitisse o reconhecimento de padrões histomorfológicos de lesão renal, a estratificação dos pacientes conforme tais achados e a comunicação de dados relevantes que permitissem o manejo apropriado dos pacientes.

Em 1974, a base para a classificação patrocinada pela OMS foi constituída na reunião de Buffalo (NY) a partir da publicação original de BALDWIN. As primeiras revisões foram feitas em 1976 por SINNIH e FENG e em 1978 por APPEL *et al.* É nesta última publicação que aparecem, pela primeira vez, os algarismos romanos para categorizar as classes (Quadro 1 e Figuras 4 a 9).

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS GLOMERULONEFRITES NO LES, OMS, 1974

I – Normal sob todas as técnicas
II a – Aspecto normal à microscopia óptica; depósitos de imunocomplexos à IF e/ou EM II b – Glomerulonefrite mesangial; depósitos de imunocomplexos à IF e/ou EM
III – Glomerulonefrite proliferativa focal
IV – Glomerulonefrite proliferativa difusa
V – Glomerulonefrite membranosa

FONTE: ANTONOVICH, 1995



FIGURA 4 - GLOMÉRULO NORMAL À MO. PAS COM DIASTASE, 200 X

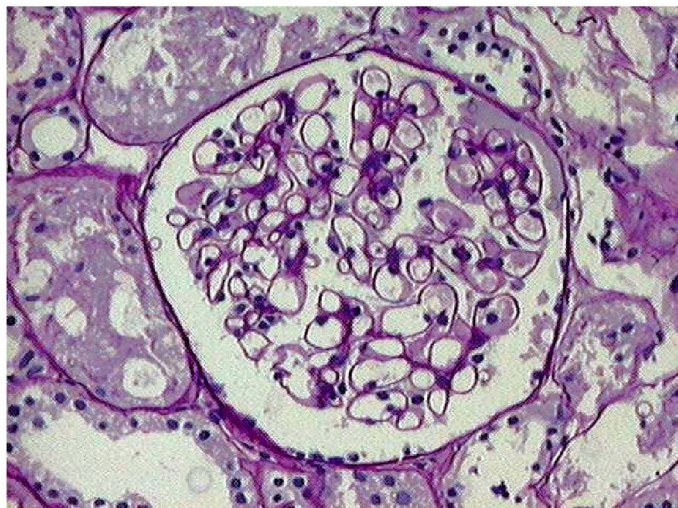


FIGURA 5 - GLOMERULONEFRITE MESANGIAL. PAS COM DIASTASE, 200 X

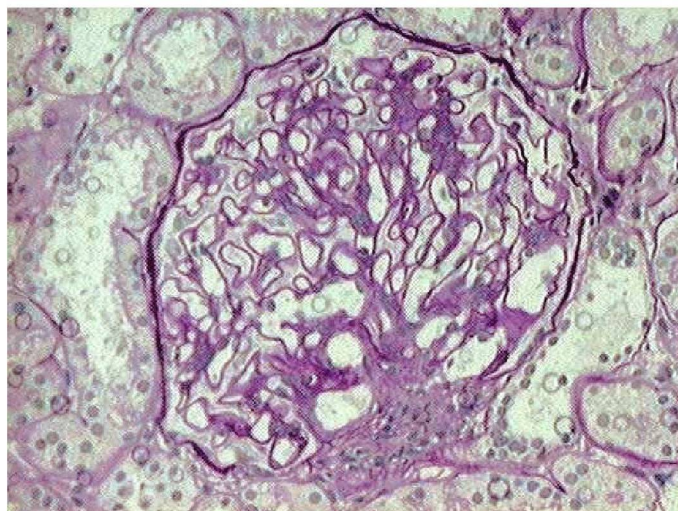


FIGURA 6 - GLOMERULONEFRITE MESANGIAL. PAMS, 200 X

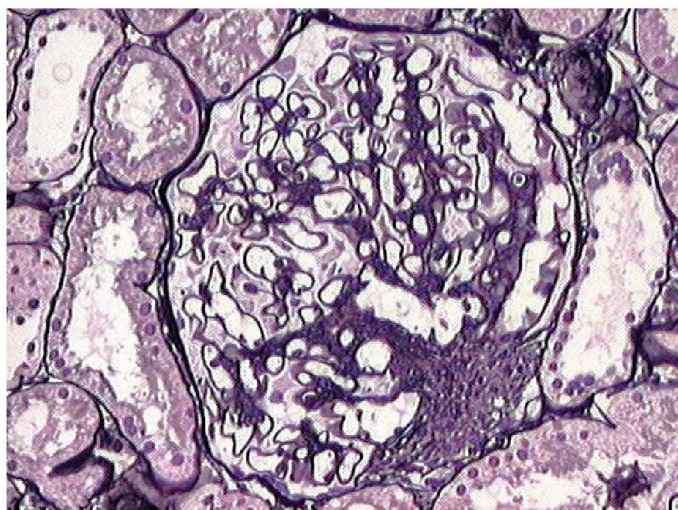




FIGURA 7 - GLOMERULONEFRITE PROLIFERATIVA. LESÃO SEGMENTAR. HE, 200 X

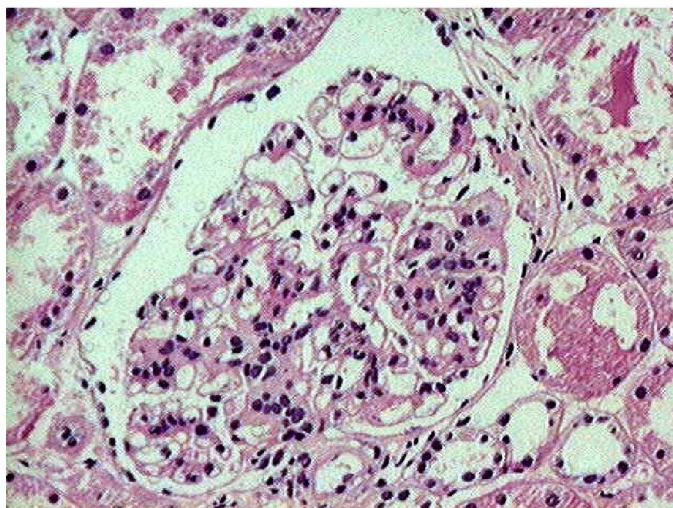


FIGURA 8 - GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA. PAMS, 1000 X

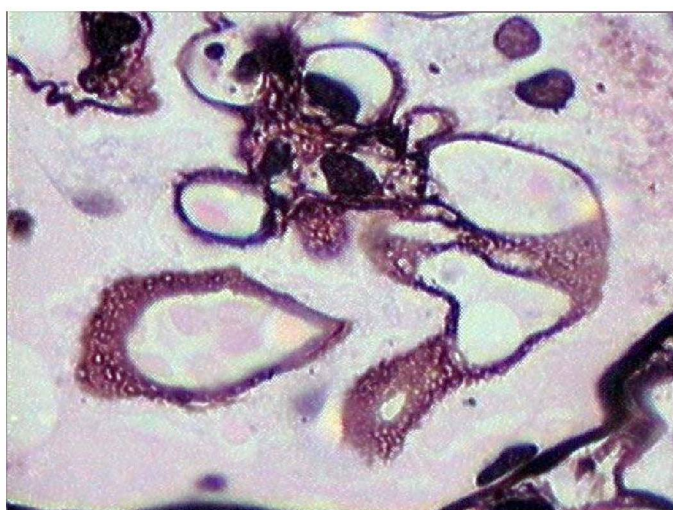
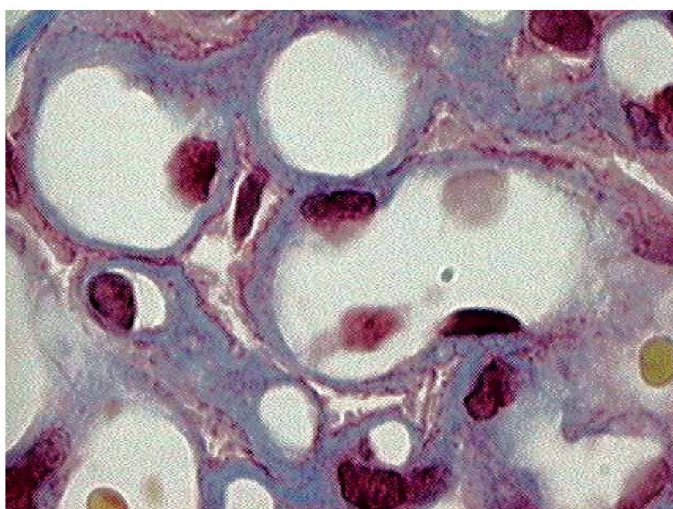


FIGURA 9 - GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA. DEPÓSITOS FUCSINOFÍLICOS.  
TRICRÔMICO DE MASSON, 1000 X



FONTE: A autora – casuística deste estudo



POLLAK, *et al.* (1973) apontaram as primeiras deficiências no sistema de classificação proposto, ao destacarem a falta de maiores considerações quanto à natureza e gravidade das alterações reversíveis e irreversíveis dos compartimentos glomerular, túbulo-intersticial e vascular. Este foi o primeiro passo para a elaboração de um sistema semiquantitativo de atribuição de *scores* a critérios selecionados de atividade e cronicidade (Quadros 2 e 3), baseado nas observações de MOREL-MAROGER *et al.* (1976) e AUSTIN *et al.* (1983).

QUADRO 2 - ÍNDICES DE ATIVIDADE EM NEFRITE LÚPICA

Hipercelularidade endocapilar	0-3
Infiltração leucocitária	0-3
Depósitos hialinos subendoteliais	0-3
Necrose fibrinóide / cariorrexe	0-3 (x2)
Crescentes celulares	0-3 (x2)
Inflamação intersticial	0-3
Total	24

FONTE: STRIKER, STRIKER E D'AGATI, 1997

QUADRO 3 - ÍNDICES DE CRONICIDADE EM NEFRITE LÚPICA

Glomérulos escleróticos	0-3
Crescentes fibrosas / fibrocelulares	0-3
Atrofia tubular	0-3
Fibrose intersticial	0-3
Total	12

FONTE: STRIKER, STRIKER E D'AGATI, 1997

Tendo como ponto de partida as discussões ocorridas no encontro de Paris do ISKDC (International Study of Kidney Diseases in Children) em 1980, CHURG propôs uma revisão da classificação da OMS das glomerulonefrites no LES na publicação do seu livro, em 1982 (Quadro 4). Nesta publicação, procurou-se acomodar os conceitos de atividade e cronicidade das lesões, somando-se às descrições das lesões glomerulares básicas os sinais de atividade e cronicidade da doença, criando-se subclasses. Foram criadas formas mistas de glomerulonefrite membranosa e glomerulonefrite proliferativa e a forma avançada esclerosante da doença (Classe VI). Esta classificação foi a primeira a ter o suporte formal da OMS. Uma segunda revisão foi realizada em 1995, novamente pelo mesmo CHURG, na re-edição do livro. Neste esquema, a separação entre as Classes III e IV foi feita em termos de porcentagem de glomérulos comprometidos (e não no caráter segmentar

das lesões). Foram removidas as subclasses Vc e Vd, uma vez que estas teriam prognóstico muito mais próximo ao das respectivas classes III e IV, dando-se preferência ao diagnóstico de lesões mistas ou combinadas. Ainda que as classificações de 1982 e 1995 tenham procurado maior precisão e detalhamento, muitos patologistas até hoje não aceitam completamente as modificações propostas por Churg, continuando a adotar a classificação da OMS de 1974, à qual incorporaram a classe VI.

QUADRO 4 - CLASSIFICAÇÃO DAS GLOMERULONEFRITES NO LES, OMS/ISKDC, 1982

I	- a	- Normal sob todas as técnicas
	- b	- Normal à MO; depósitos à IF e/ou ME
II	- a	- GN mesangial, com hiper celularidade / expansão mesangiais discretas
	- b	- GN mesangial, com hiper celularidade / expansão mesangiais moderadas
III	- a	- GN segmentar e focal com lesões necrotizantes ativas
III	- b	- GN segmentar e focal com lesões ativas e esclerosantes
III	- c	- GN segmentar e focal com lesões esclerosantes
IV	- a	- GN difusa, sem lesões segmentares
IV	- b	- GN difusa, com lesões necrotizantes ativas
IV	- b	- GN difusa, com lesões ativas e esclerosantes
V	- a	- GN membranosa difusa pura
V	- b	- GN membranosa associada à classe II
V	- c	- GN membranosa associada à classe III
V	- d	- GN membranosa difusa associada à classe IV
VI	- -	- GN esclerosante avançada

FONTE: ANTONOVICH, 1995.

É importante salientar que nenhuma classificação em medicina é ideal, incluindo a classificação da OMS das glomerulonefrites no LES. Uma crítica comum à classificação da OMS é a relativa pobreza de informações concernentes a alterações tubulares, intersticiais e vasculares, em comparação ao detalhamento dado às alterações glomerulares, mesmo sabendo-se do seu potencial de progressão independente (HILL *et al.*, 2000. SCHWARTZ e LEWIS, 2002). Outra falha apontada é a incapacidade da classificação vigente em determinar quais os portadores de glomerulonefrite segmentar ou difusa, proliferativa ou esclerosante ou com lesões mistas que irão evoluir com prejuízo da função renal (SCHWARTZ e LEWIS, 2002). Apesar de tais críticas, é importante salientar que classificações refletem apenas o conhecimento corrente dos aspectos clínicos e fisiopatológicos de determinada doença quando de sua elaboração. O maior valor de uma classificação

reside no fato de conseguir propor uma avaliação sistemática das lesões, permitir a padronização das informações e a estratificação dos pacientes e apontar a orientação terapêutica do paciente, e não na sua capacidade de identificar indivíduos de risco para um prognóstico adverso (FERLUGA *et al.*, 2000). Para fins de correlação clínico-patológica, os índices semiquantitativos de atividade e cronicidade oferecem informações a respeito da severidade do comprometimento agudo ou crônico de cada compartimento, além de constituírem um método útil de organizar o laudo anatomopatológico de biópsia renal (AUSTIN *et al.*, 1983). É interessante observar como aos achados túbulo-intersticiais é atribuído valor limitado na avaliação da atividade da doença, em contraste com o peso maior que têm na avaliação da sua cronicidade. Apesar dos questionamentos quanto à reprodutibilidade e o valor preditivo de tais índices (WERNICK *et al.*, 1993; MARCUSSEN *et al.*, 1995; SCHWARTZ, 2000), estes podem ter valor significativo na orientação do manejo clínico e na avaliação prognóstica de pacientes, individualmente ou em grupos de estudo em que comparações sejam necessárias (GRANDE e BALOW, 1998).

Tendo em vista os consideráveis avanços na compreensão dos mecanismos patogênicos e os trabalhos de correlação clínico-patológica realizados na área desde as últimas revisões da classificação da OMS, a Sociedade Internacional de Nefrologia (ISN) e a Sociedade de Patologia Renal (RPS) propuseram, em 2003, uma nova revisão da classificação da OMS (WEENING *et al.*, 2004). Em linhas gerais, a classificação proposta segue as linhas-mestras da classificação de 1974, preservando sua simplicidade e baseando-se fortemente na patologia glomerular. Como nas revisões de 1982 e 1995, importantes refinamentos e definições qualitativas e quantitativas foram adicionadas às classes III e IV. Ainda, definiu-se quantitativamente o critério para diagnóstico de nefrite lúpica em estágio avançado (classe VI) e excluiu-se a definição de normalidade da amostra renal. As definições propostas são apresentadas no Quadro 5 e sucintamente discutidas abaixo.

**Classe I:** Em relação às classificações anteriores, a ausência de alterações à microscopia óptica, eletrônica ou de imunofluorescência não é mais qualificável como classe I. Propõe-se definir classe I como nefrite lúpica mesangial mínima com acúmulo de esparsos imunocomplexos mesangiais detectáveis à microscopia de

imunofluorescência, porém sem alterações à microscopia óptica, forma categorizada em 1995 como classe Ib.

**Classe II:** Pertencem à classe II as glomerulonefrites proliferativas mesangiais, isto é, qualquer grau de hiper celularidade mesangial, associado a depósitos mesangiais à imunofluorescência ou microscopia eletrônica. Esta definição acomoda as classes II a e II b da OMS 1995. Na classificação proposta pela ISN/RPS admite-se a presença de escassos depósitos de imunocomplexos intramembranosos e mesmo subepiteliais em alças capilares periféricas. Deve-se atentar, no entanto, para condições excludentes da classe como depósitos subepiteliais extensos e difusos, sinais de esclerose segmentar ou focal secundários a episódios proliferativos anteriores, necrose e crescentes

**Classe III:** Define-se como classe III as glomerulonefrites focais, com envolvimento inferior a 50% dos glomérulos por lesões proliferativas endocapilares segmentares ou esclerose, associadas ou não a necrose e crescentes.

**Classe IV:** Como nas classificações anteriores, a classe IV conserva-se como nefrite lúpica difusa, com envolvimento igual ou superior a 50% dos glomérulos amostrados. Na nova proposta de classificação aqui descrita, a classe IV foi maior alvo de redefinições, tendo sido subdividida em nefrite lúpica segmentar difusa (classe IV-S), quando mais de 50% dos glomérulos afetados apresentam lesões segmentares e nefrite lúpica global difusa (classe IV-G), quando mais de 50% dos glomérulos afetados apresentam lesões globais. Além da referência ao padrão de distribuição das lesões, deve-se ainda fazer menção à presença de lesões ativas, crônicas ou a combinação delas, através das iniciais A, C e A/C, respectivamente. O racional para a subdivisão da Classe IV em S e G, veio de uma publicação de LEWIS, KAWALA e SCHWARTZ (1987), em que se acentua o caráter agressivo das lesões segmentares necrotizantes. Evidências preliminares sugerem que as classes IV-S cursem mais freqüentemente com proliferação endocapilar segmentar, acompanhada ou não de necrose. Em contraste, a classe IV-G estaria associada a proliferação endo, extra ou mesangiocapilar ou à presença extensa de “alças de arame”. Ainda, aparentemente, a necrose fibrinóide representa um extremo mais severo do espectro fisiopatológico das lesões proliferativas.

**Classe V:** À classe V pertence a glomerulonefrite membranosa. Além dos depósitos subepiteliais característicos, admite-se a associação destes com depósitos mesangiais e esparsos depósitos subendoteliais à microscopia eletrônica e de imunofluorescência. Depósitos subendoteliais à microscopia óptica levantam a possibilidade de classe V combinada às classes III ou IV ou classe III ou IV puras, na dependência da extensão e distribuição dos depósitos. O diagnóstico das formas combinadas de nefrite lúpica requer o envolvimento por glomerulonefrite membranosa de pelo menos 50% da superfície capilar glomerular total à microscopia óptica ou de imunofluorescência.

**Classe VI:** Designa-se como classe VI os casos em que se observa mais de 90% de glomeruloesclerose global atribuível a estádios crônicos terminais das classes III, IV ou V. Sinais de doença ativa não devem ser encontrados.

Em suma, as mais expressivas mudanças propostas pela ISN/RPS foram: A) a rejeição da normalidade; B) a demarcação de 50% como limite mínimo a partir do qual uma lesão glomerular é considerada difusa; C) o reforço das definições de lesões ativas (A), ativas/crônico-escleróticas (A/C) e crônico-escleróticas (C); D) critérios diagnósticos precisos de classe VI.

QUADRO 5 - CLASSIFICAÇÃO DAS GLOMERULONEFRITES NO LES, ISN/RPS, 2003

I	- GN mesangial mínima: aspecto normal à microscopia óptica; depósitos mesangiais à IF
II	- GN proliferativa mesangial: expansão de matriz ou celularidade mesangial de qualquer grau à microscopia óptica; esparsos depósitos subepiteliais ou subendoteliais à IF/EM
III	A - GN proliferativa focal com lesões ativas
	A/C - GN proliferativa focal com lesões ativas e crônicas
	C - GN proliferativa focal com lesões crônicas
IV	S-A - GN proliferativa segmentar difusa, lesões ativas e necrotizantes
	G-A - GN proliferativa global difusa, lesões ativas e necrotizantes
	S-A/C - GN proliferativa segmentar difusa, lesões ativas e crônicas
	G-A/C - GN proliferativa global difusa, lesões ativas e crônicas
	S-C - GN proliferativa segmentar difusa, lesões crônicas com cicatrizes
	C-C - GN proliferativa global difusa, lesões crônicas com cicatrizes
V	- GN membranosa – depósitos subepiteliais globais ou segmentares ou suas seqüelas à MO, IF ou ME, combinada ou não às classes III e IV.
VI	- Nefrite lúpica esclerosante avançada – mais de 90% de glomérulos escleróticos sem lesões ativas residuais

FONTE: WEENING *et al.* 2004.

Obviamente, as sugestões propostas com relação à categorização das lesões pertencentes à classe IV serão o maior alvo de investigação no que concerne à relevância das informações providas para determinação de prognóstico em longo prazo e terapia apropriada (YOKOYAMA *et al.*, 2004; MITTAL *et al.*, 2004). Estima-se que lesões dentro da classe IV-G/A terão o prognóstico mais favorável sob terapia convencional, enquanto aquelas pertencentes à classe IV-S/A/C terão o pior prognóstico (WEENING *et al.*, 2004). Se tais hipóteses forem validadas em estudos prospectivos, a nova classificação terá feito uma valiosa contribuição ao papel da biópsia renal na avaliação renal de portadores de LES. O processo de quase cinco décadas de tentativas de classificação da nefrite lúpica claramente mostra que a proposta da ISN/RPS deve ser considerada um trabalho ainda em progresso que indubitavelmente sofrerá modificações à medida que emergirem novas informações concernentes à patogênese, mediação da injúria glomerular e correlação clínico-patológica.

### 3. OBJETIVOS

- Descrever as características à microscopia óptica, de imunofluorescência e eletrônica em amostras renais de pacientes portadores de nefrite lúpica subclínica.
- Avaliar o papel de cada técnica aplicada na caracterização dos possíveis achados histopatológicos.
- Classificar as lesões conforme:
  - o a Classificação das Glomerulonefrites no Lupus Eritematoso Sistêmico, OMS modificada
  - o a Classificação das Glomerulonefrites no Lupus Eritematoso Sistêmico, OMS, 1995
  - o a Classificação das Glomerulonefrites no Lupus Eritematoso proposta em 2003 pela Sociedade Internacional de Nefrologia (ISN) e pelo Grupo de Trabalho de Classificação da Nefrite Lúpica da Sociedade de Patologia Renal (RPS).
- Correlacionar o contexto clínico-laboratorial inicial e evolutivo com os achados histopatológicos.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. CASUÍSTICA

Foram retrospectivamente identificados os pacientes portadores de LES, em acompanhamento no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, que foram submetidos a biópsias renais entre 1997 e 1999. O diagnóstico de LES foi fundamentado nos critérios estabelecidos pela Associação Americana de Reumatologia, isto é, a presença de no mínimo 4 das 11 manifestações diagnósticas a seguir: 1- *rash* malar; 2- *rash* discóide; 3- fotossensibilidade; 4- úlceras orais; 5- artrite; 6- serosite; 7- disfunção renal, com proteinúria > 500 mg/dia ou cilindros celulares; 8- desordens neurológicas; 9- desordens hematológicas; 10- desordens imunológicas, como anti-DNA, anti-Sm ou VDRL falso negativo; 11- presença de anticorpos anti-nucleares. Foram incluídos no presente estudo os pacientes portadores de nefrite lúpica subclínica, os quais obrigatoriamente atendiam aos seguintes critérios ao tempo em que foram submetidos a biópsia: 1- urinálise negativa, isto é, sem sinais de proteinúria, sem cilindros e sedimento com menos de 3 hemácias e 3 leucócitos por campo; 2- microalbuminúria de 24 horas inferior a 250 mg; 3- creatinina sérica inferior a 1,2 mg/dl em indivíduos do sexo feminino e 1,5 mg/dl em indivíduos do sexo masculino (HOLLICRAFT *et al.*, 1976). Parte da população incluída nesse estudo já foi alvo de pesquisa anterior (ALMEIDA, 1998). Evolução para nefrite lúpica manifesta foi considerada nos pacientes que apresentaram proteinúria, sedimento urinário ativo ou elevação dos níveis de creatinina sérica e microalbuminúria acima dos parâmetros acima.

### 4.2. BIÓPSIA RENAL

As biópsias foram realizadas mediante consentimento informado, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e conforme a técnica adotada no Serviço de



Nefrologia dessa Instituição. As amostras renais foram obtidas de pólo renal inferior, estando o paciente em decúbito ventral, mediante exame radiológico prévio ou guiadas por tomografia axial computadorizada. Após antissepsia e anestesia local com lidocaína 2% sem vasoconstritor, procedia-se à incisão da pele com bisturi e introdução da agulha de Vim-Silverman, modificada por Franklin. Quando da localização da área ideal para biópsia, retirava-se a guia e era introduzida a agulha, obtendo-se dois a três fragmentos renais filiformes. Sob magnificação com lupa, o fragmento com maior representação cortical era imerso em solução de formaldeído 10% e encaminhado ao Serviço de Anatomia Patológica para realização processamento histológico e exame à microscopia óptica. Do(s) fragmento(s) restante(s) eram retirados, ainda sob magnificação com lupa, um a dois fragmentos corticais renais de 1 milímetro cúbico, sendo estes imersos em solução de glutaraldeído 3% para processamento e exame ultraestrutural. O material restante era imerso em solução salina isotônica e imediatamente encaminhado ao Serviço de Imunopatologia para processamento e exame à microscopia de imunofluorescência.

#### 4.2.1. Microscopia óptica

O fragmento submetido era mantido em solução de formaldeído a 10% para microscopia óptica por 6-12 horas. Seguia-se o processamento histológico manual de rotina, por desidratação em álcool em concentrações crescentes, diafanização em clorofórmio e inclusão em parafina, conforme modificação da técnica de MICHALANY, 1998 (protocolo anexo 1). Os blocos foram submetidos a microtomia, gerando-se cortes de três micrômetros de espessura, com os quais eram obtidas oito preparações microscópicas (lâminas). Cada duas lâminas eram coradas pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff com diastase (PAS c/d), tricrômico de Gomori ou de Masson e metenamina argêntica-ácido periódico (PAMS). As lâminas constantes em arquivo foram reexaminadas (MFSS) em microscópio Olympus BX40 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão), sem conhecimento dos dados clínico-laboratoriais e dos resultados à microscopia eletrônica e de imunofluorescência. As alterações foram definidas conforme os critérios constantes no glossário de termos utilizados em patologia renal, em anexo.

Os achados finais foram classificados conforme as Classificações das Glomerulonefrites no Lupus Eritematoso Sistêmico da OMS modificada e da OMS, 1995 e pela classificação proposta em 2003 pela Sociedade Internacional de Nefrologia (ISN) e pelo Grupo de Trabalho para Classificação da Nefrite Lúpica da Sociedade de Patologia Renal (RPS).

#### 4.2.2. Microscopia de Imunofluorescência

A fração renal mantida sob baixa temperatura em solução salina isotônica 9% era incluída em OCT (TissueTek, Toquio, Japão) e congelada em nitrogênio líquido. O bloco congelado obtido era seccionado em criostato, fornecendo quatro cortes com dois a três micrômetros de espessura. Os cortes colocados sobre suas respectivas lâminas eram fixados em acetona, secos ao ar, lavados em tampão fosfato (PBS), em seguida recebendo uma a duas gotas de anti-soro marcado com isotiocianato de fluoresceína (anti-IgA, anti-IgM, anti-IgG e anti-C3), em câmara úmida, conforme protocolo anexo 2. O exame ao microscópio de imunofluorescência (Carl Zeiss AG, Alemanha), identificou as áreas de reação positiva, seu padrão (linear ou granular), distribuição (segmentar ou global; focal ou difusa) e localização (alças capilares, mesângio, túbulos e vasos). Graduou-se a intensidade da fluorescência em zero a 3+. Devido à evanescência das preparações para microscopia de imunofluorescência, e à impossibilidade de análise retrospectiva do material, foram revisados laudos e arquivos fotográficos, quando disponíveis, dos exames pertinentes aos pacientes identificados.

#### 4.2.3. Microscopia eletrônica

Após 24 horas de fixação em solução de glutaraldeído 3%, o fragmento renal era pós-fixado em tetróxido de ósmio tamponado 1% e desidratado em álcool, seguindo-se a sua inclusão em resina plástica de emblocamento. Os cortes ultrafinos (0,08 a 0,12 micrômetro de espessura), obtidos por ultramicrotomia, foram colocados em grátulas de 0,4 cm de diâmetro, padrão 200 *mesh* e impregnados com citrato de chumbo e acetato de uranila (protocolo anexo 3). O material de biópsia de dez casos foi recuperado a partir de blocos de parafina. Para tanto, os espécimes foram retirados dos blocos, imersos em xilol aquecido e reidratados em

álcool em concentrações decrescentes; em seguida, as amostras foram lavadas em tampão fosfato e refixadas em glutaraldeído 3%, seguindo-se o processamento de rotina para microscopia eletrônica (protocolo anexo 4). O exame ultraestrutural foi realizado no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, em microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 1200 EX II (JEOL, Peabody, Estados Unidos da América).

FIGURA 10 - DEPÓSITOS ELETRONDENSOS MESANGIAIS.

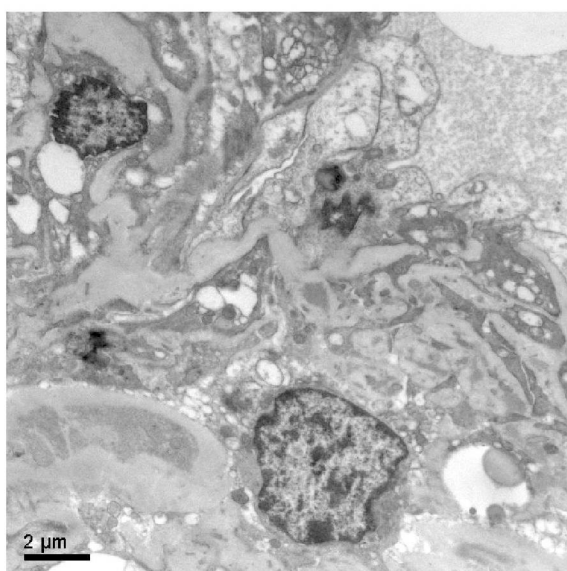


FIGURA 12 - DEPÓSITOS ELETRONDENSOS INTRAMEMBRANOSOS. 15 000 X

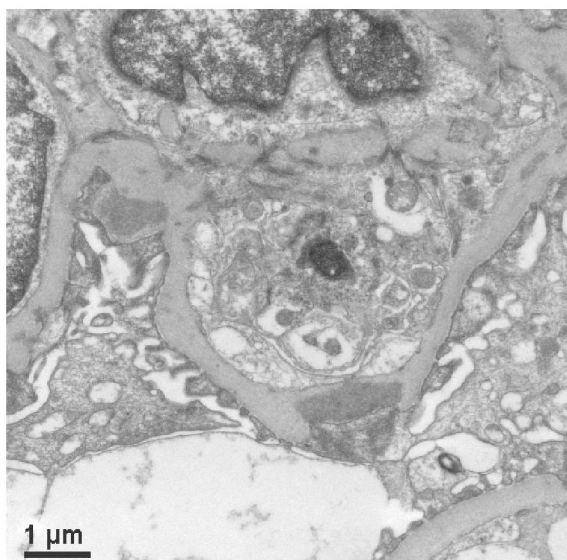


FIGURA 11 - DEPÓSITOS ELETRONDENSOS SUBENDOTELIAIS E INTRAMEMBRANOSOS. 12 000 X

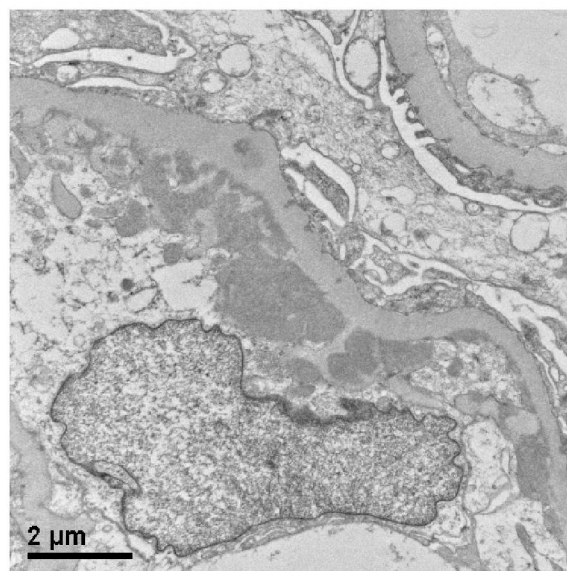
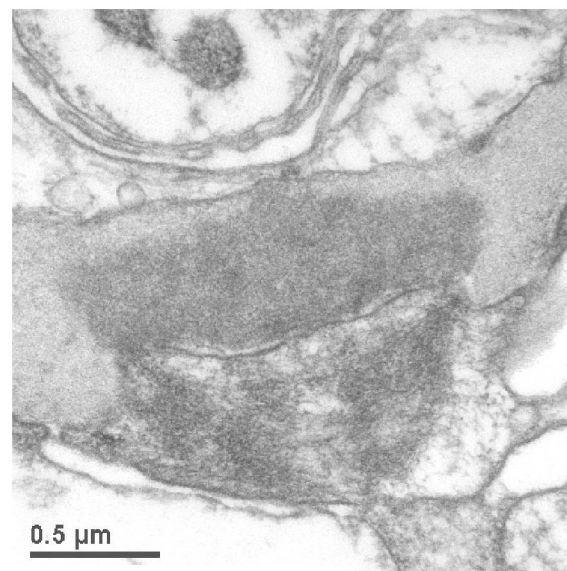


FIGURA 13 - DETALHE DE DEPÓSITO INTRAMEMBRANOSO. 60 000 X



FONTE: A autora. Casuística deste estudo.

Buscou-se depósitos eletrondensos mesangiais, subendoteliais, subepiteliais ou intramembranosos (Figuras 10 a 13); espessamento das membranas basais dos capilares glomerulares, aumento da matriz mesangial e hiper celularidade.

Os registros fotográficos foram obtidos por meio de BioScan Camera Modelo 792 e *software* de captação de imagens Gatan Digital Micrograph 3.6.5 (Gatan Inc., Warrendale, Estados Unidos da América) instalado em microcomputador Pentium 4 Intel com sistema operacional Windows 2000 Professional (Microsoft Corporation, Redmond, Estados Unidos da América).

#### 4.3. DADOS DOS PRONTUÁRIOS

Os prontuários médicos foram solicitados ao Serviço de Arquivo Médico (SAME) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná mediante autorização da Direção do Corpo Clínico. Foram colhidos e tabulados os seguintes dados de cada paciente participante: sexo, idade – atual, ao diagnóstico de LES e no momento da biópsia renal – tempo de evolução da doença, manifestações extrarrenais do LES, dados da urinálise, proteinúria em 24 horas, creatinina sérica e níveis séricos de C3 e CH50, quando disponíveis.

#### 4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Recorreu-se à análise descritiva dos dados através de tabelas, quadros e gráficos.

O teste “W” de Shapiro-Wilks descartou a normalidade da distribuição das observações, o que justificou a utilização dos testes não-paramétricos<sup>1</sup> “Comparação entre duas Proporções” através do *software* “Primer of Biostatistics” (GLANZ, 1997) e Exato de Fisher, pelo Epi-Info (Centers for Disease Control and

---

<sup>1</sup> Testes não-paramétricos são utilizados quando os dados não atendem às suposições feitas pelas técnicas tradicionais. Técnicas não-paramétricas fazem poucas suposições sobre a natureza das distribuições originais, isto é, não se assume que a população cujos dados foram amostrados tenha distribuição normal ou aproximadamente normal (PAGANO E GAUVREAU, 2004).

Prevention & World Health Organization, Atlanta, Estados Unidos da América). O nível de significância (isto é, a probabilidade de se cometer um erro tipo I)<sup>2</sup> adotado foi menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

Para a avaliação do papel das técnicas diagnósticas empregadas (microscopia óptica, microscopia de imunofluorescência e microscopia eletrônica) recorreu-se ao cálculo da sensibilidade e do valor preditivo negativo das mesmas, quando analisadas isoladamente ou em combinação. Define-se sensibilidade como a fração de indivíduos não normais que o teste é capaz de detectar. Valor preditivo negativo é a fração de indivíduos com teste negativo que efetivamente não são portadores de doença ou a fração de previsões de não-doença que efetivamente se concretizam<sup>3</sup>. Estabeleceu-se como padrão-ouro o resultado obtido pela combinação das três técnicas diagnósticas (microscopia óptica + microscopia de imunofluorescência + microscopia eletrônica).

#### 4.5. SUBSÍDIOS

Este trabalho foi registrado no Banco de Pesquisas da Universidade Federal do Paraná (BANPESq) sob o número 2003013061 e contou com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

---

<sup>2</sup> Quando há necessidade de se tirar alguma conclusão sobre um parâmetro da população – por exemplo, a média de uma variável aleatória contínua – uma abordagem comum em Estatística é realizar um teste de hipóteses estatísticas. Para tanto, assume-se que a média em questão  $\mu$  é igual a algum valor postulado  $\mu_0$ . Essa afirmação chama-se hipótese nula, chamando-se de hipótese alternativa àquela que a contradiz. Diz-se que há significância estatística quando a hipótese nula foi rejeitada por um teste estatístico. O  $p$ -valor é o valor associado à estatística de teste que indica a probabilidade de um valor tão ou mais extremo que o observado, ocorrer por acaso em várias repetições do experimento. Erro do tipo I consiste em rejeitar a hipótese de nulidade quando ela é verdadeira. Erro do tipo II consiste em aceitar a hipótese da nulidade quando ela é falsa. Ao se estabelecer o  $p$ -valor em 0,05, a probabilidade de se rejeitar erroneamente a hipótese nula é de 5% (PAGANO e GAUVREAU, 2004; VIEIRA, 2004).

<sup>3</sup> Matematicamente:  $S = VP / (VP + FN)$  e  $VPN = VN / (VN + FN)$ , sendo S=sensibilidade, VPN=valor preditivo negativo, VP=verdadeiros positivos, FN=falsos negativos e VN=verdadeiros negativos

## 5. RESULTADOS

### 5.1. DADOS DEMOGRÁFICOS

Durante o período de 1997 a 2000, foram analisadas 60 biópsias renais obtidas de portadores de LES. Vinte e cinco (25) destas biópsias foram realizadas em pacientes que atendiam aos requisitos de inclusão no presente estudo. Destes, 23 (92%) eram do sexo feminino e 2 (8%) eram do sexo masculino. A idade média atual foi de  $35,2 \pm 7,7$  anos (variando de 24,0 a 55,0 anos) em pacientes do sexo feminino e de  $57,5 \pm 19,09$  anos (variando de 44 a 71 anos) em pacientes do sexo masculino. O tempo de duração da doença até o momento da biópsia foi de  $4,4 \pm 5,25$  anos, considerando-se como início da doença o diagnóstico firmado de LES (Tabela 1).

TABELA 1 - IDADE ATUAL, IDADE AO INÍCIO DA DOENÇA, IDADE À BIÓPSIA E IDADE AO ÓBITO. TEMPO DE DURAÇÃO DA DOENÇA NOS PACIENTES AVALIADOS

DADOS	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIANA
IDADE FEMININO (anos)					
• Atual	35,2	7,7	24,0	55,0	-
• De Início da Doença	24,7	7,3	15,0	47,0	-
• À Biópsia	28,3	7,8	16,0	49,0	-
• Óbito	30,0	-	-	-	-
IDADE MASCULINO (anos)					
• Atual	57,5	19,09	44,0	71,0	-
• De Início da Doença	40,0	32,52	17,0	63,0	-
• À Biópsia	53,0	22,62	37,0	69,0	-
• Óbito	71,0	-	-	-	-
TEMPO					
• Tempo de duração da doença (anos após diagnóstico)	4,4	<sup>(1)</sup> 5,25	0	20,0	2,0

FONTE: dados da autora

NOTA: 1) Desvio padrão muito elevado, recomenda-se utilizar a mediana.

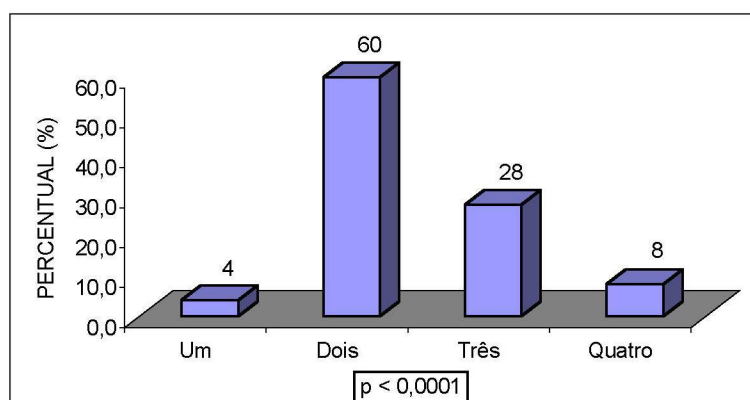
## 5.2. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

A maioria dos pacientes (96%) apresentou dois ou mais órgãos / sistemas comprometidos ( $p < 0,0001$ ) (Tabela 2 e Gráfico 1), principalmente em articulações (92%) e pele (88%). O comprometimento simultâneo de pele e articulações ocorreu em 21 pacientes (84% do total). Apenas um paciente apresentou comprometimento cutâneo isolado.

TABELA 2 - NÚMERO DE ÓRGÃOS / SISTEMAS COMPROMETIDOS

COMPROMETIMENTO	NÚMERO (n = 25)	PERCENTUAL
NÚMERO	61	2,4 / paciente
• Um	01	4,0
• Dois	15	60,0
• Três	07	28,0
• Quatro	02	8,0
LOCAL		
• Articulações	23	92,0
• Pele	22	88,0
• TVP	03	12,0
• SNC	03	12,0
• Serosas	02	8,0
• Anemia hemolítica	02	8,0
• Mononeurite	01	4,0
• Pulmão	01	4,0
• <i>Raynaud</i>	01	4,0
• Síndrome Antifosfolípide	01	4,0
• Sjögren	01	4,0
• Cardite	01	4,0

GRÁFICO 1 - NÚMERO DE ÓRGÃOS / SISTEMAS



FONTE: Tabela 2

Nos pacientes com doença cutâneo-articular, houve a associação desta com comprometimento de sistema nervoso central e trombose venosa profunda em dois casos; Fenômeno de Raynaud, doença pulmonar; cardite, serosite, anemia hemolítica, Síndrome de Sjögren e síndrome antifosfolípide em um caso cada. Houve um caso de mononeurite associada à trombose venosa profunda; um caso de comprometimento articular associado a anemia hemolítica e um caso de doença articular somada a serosite.

Ao momento de realização das biópsias, todos os pacientes tiveram tomadas as dosagens de C3 e CH50 (Tabela 3). O valor médio de C3 foi de  $73,24 \pm 23,07$  mg/dl (média de 72,05 mg/dl), variando de 42,2 mg/dl a 130 mg/dl (valores de referência = 80-90 mg/dl). O valor médio do complemento hemolítico total (CH 50) foi de  $68,1 \pm 26,05$  U/l (média de 64 U/l), variando de 20 U/l a 123 U/l (valores de referência= 68-108 U/l). Durante o seguimento, as dosagens de C3 e CH50 foram inconstantes e irregulares.

### 5.3. ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Em 23 dos pacientes analisados (92% do total) foram detectadas anormalidades em alguma das três técnicas empregadas. Dois casos (8% do total) estiveram livres de achados à microscopia óptica, de imunofluorescência ou eletrônica.

Todas as amostras foram consideradas adequadas ao exame pela microscopia óptica, em média fornecendo  $16,88 \pm 7,14$  glomérulos por exame. Dezesete (17) dos 25 pacientes (68%) apresentaram alterações à microscopia óptica ( $p=0,024$ ) (Tabela 3). Portanto, a microscopia óptica atingiu sensibilidade de 73,9% na demonstração de alterações histopatológicas (17/23 casos positivos). Destes, 12 apresentaram glomerulonefrite mesangial, um paciente apresentou glomerulonefrite proliferativa focal e outros 4 pacientes apresentaram glomerulonefrite membranosa em fase inicial (Figuras 4, 5, 6, 7, 8 e 9). O índice de atividade registrado foi de  $0,48 \pm 0,77$  e o índice de cronicidade foi de  $0,52 \pm 0,61$ .



TABELA 3 - DADOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E ANATOMOPATOLÓGICOS DOS PACIENTES ANALISADOS

Pcte	Sexo	Idade atual	Idade de início da	Idade à bx	Doença extrarrenal	C3 (mg/dl) / CH50 (U/l)	OMS modificada	OMS 1995	ISN/RPS 2003	IF	EM
STS	F	39	32	32	Mononeurite e TVP	76,7 / 73	II b	II a	II	IgM, IgG, IgA mesangial global e difuso discreto; C3 segmentar e difuso moderado	mesangiais intramb
MWR	F	37	22	30	pele e articular	69,8 / 106	II a	I b	I	IgM segmentar e difuso discreto em mesângio	-
VSA	F	27	19	23	pele e articular	52 / 45	V	V b	V	IgG e IgM em alças; IgG subendotelial; C3 global e difuso moderado em alças	mesangiais intramb subendoteliais
JA	F	35	26	28	pele e articular	54 / 71	III	III b	III A	IgA segmentar e difuso em alças; IgM e C3 granular mesangial difuso moderado	-
IAC	F	30	22	22	pele e articular		II b	II a	II	IgM e C3 granular global e difuso em mesângio e vasos	-
EFR	F	28	17	20	pele articular pulmão	121 / 105	II a	I b	I	-	mesangiais intramb
RGC	F	32	22	26	pele articular, SNC, TVP		V	V b	V	IgA e IgM segmentar e difuso em alças	mesangiais intramb
DNO	F	33	26	26	articular serosas	64,9 / 80	II b	II a	II	IgM e IgG granular segmentar discreto em mesângio	-
DGR	F	37	28	30	pele e articular	88 / 74	II b	II b	II	IgM e C3 mesangial segmentar e difuso discreto	mesangiais intramb
HFS	F	57	45	49	pele e articular	90 / 87	I	I a	NC	-	-

CA	F	40	29	31	pele, articular e carneas	82 / 43,5	II b	II b	II	IgM mesangial segmentar e difuso	intramb
JBA	F	28	20	21	pele e articular	85,5 / 20	II b	II a	II	IgM, IgG, IgA mesangial global e difuso discreto; C3 segmentar e difuso moderado	mesangiais
STS	F	41	27	34	pele e articular	43 / 33	II b	II a	II	IgG granular segmentar difuso discreto em mesângio	-
DRGL	F	29	30	31	pele e articular	75,5 / 55,5	II b	II b	II	IgM granular global e difuso discreto em mesângio	-
RS	F	25	16	18	pele articular	58 / 20	V	V b	V	IgM, IgA, IgG e C3 granular global e difuso discreto em alças capilares;	NR
DAL	F	36	27	28	pele articular antifosfolipide	80,4 / 62	V	V b	V	IgM e C3 granular global e difuso moderado em alças capilares; IgA linear subendotelial global e difuso	-
MRLP	F	47	37	41	articular	64,2 / 85	II a	I b	I	IgM e IgG granular segmentar difuso discreto em mesângio	-
CS	F	31	17	24	pele articular SNC	53,4 / 42	V	V b	V	Ig M, IgA, IgG e C3 granular global e difuso discreto a moderado em alças capilares	mesangiais intramb subendoteliais
JMS	M	44	17	37	pele e articular	42,2 / 64	II b	II a	II	IgM e IgA granular global e difuso moderado em mesângio	-
RPS	F	30	23	28	pele articular Sjogren	66 / 49	V	V b	V	IgM granular global e difuso intenso em alças capilares; IgG e C3 granular segmentar e difuso em alças capilares	NR
RBF	F	38	25	31	pele	90 / 52	II a	I b	I	IgM, IgA e IgG granular segmentar e difuso discreto a moderado em mesângio	-

SO	F	24	15	16	pele e articular	63 / 100	II b	II a	II	IgM e IgA granular global e difuso moderado em mesângio	NR
GPL	M	71	63	69	pele e articular	80,6 / 100	II a	I b	I	IgM granular segmentar e difuso em a mesângio	NR
SS	F	29	20	22	pele articular cardite	81 / 104	II a	I b	I	IgM granular segmentar e difuso discreto em mesângio	NR
LRPS	F	48	21	41	pele articular SNC	130 / 123	I	I a	NC	-	-
					TVP						

F = Feminino; M = Masculino; SNC = Sistema Nervoso Central; TVP = Trombose Venosa Profunda; C3 = Fração 3 do Complemento; CH50 = Complemento Hemolítico Total; NR = Não realizado; NC = Não classificável; Intramb = Intramembranosos

--

A microscopia de imunofluorescência identificou depósitos de imunocomplexos em 22 dos 25 casos submetidos à análise (88% do total,  $p < 0,0001$ ). Depósitos de IgM foram os mais comumente observados, tendo sido detectados em 18 casos, seguidos dos depósitos de IgG e C3 (ambos em 10 casos cada um) e IgA (em 9 casos). Depósitos isolados de IgM foram registrados em 5 casos. Os sítios de mais freqüente deposição dos imunocomplexos foram mesângio (em 14 casos) e alças capilares (em 7 casos). Observou-se depósitos subendoteliais em 2 casos e em vasos em um caso (Figuras 2 e 3). A identificação de complexos subendoteliais e em alças capilares em dois casos de aspecto compatível com glomerulonefrite mesangial à microscopia óptica permitiu a reclassificação como glomerulonefrite membranosa (Pacientes DAL e RS). A microscopia de imunofluorescência atingiu sensibilidade de 95,6% da identificação das alterações (22/23 casos positivos) (Tabela 3).

Dos 25 casos estudados, apenas 20 tiveram material passível de avaliação ultraestrutural. As alterações ultraestruturais estiveram ausentes em 60% dos casos analisados ( $p = 0,343$ ). Em 8 casos foram detectados depósitos eletrondensos de imunocomplexos, obtendo-se, então, sensibilidade de 44,4% (8/18 casos positivos corretamente diagnosticados). Em 7 dos 8 casos (87,5%), os depósitos tiveram localização mesangial, tendo sido associados a depósitos intramembranosos em 4 casos e a depósitos intramembranosos e subendoteliais em dois casos (Figuras 10 a 13). Foram observados depósitos intramembranosos isolados em apenas um caso (12,5% do total de casos com achados ultraestruturais) (Tabela 3).

Com relação à sensibilidade e ao valor preditivo negativo das técnicas empregadas, todos os casos com alterações à microscopia óptica apresentaram alterações também à microscopia de imunofluorescência ( $p = 0,024$ ). A utilização conjunta da microscopia óptica e da microscopia de imunofluorescência resultou em sensibilidade de 95,65% e valor preditivo negativo de 66,7%. Já a associação dos resultados obtidos exclusivamente pela microscopia de imunofluorescência e pela eletrônica atingiu uma sensibilidade de 94,4% e valor preditivo negativo de 100%. Ainda, a soma dos resultados da microscopia óptica com os resultados da

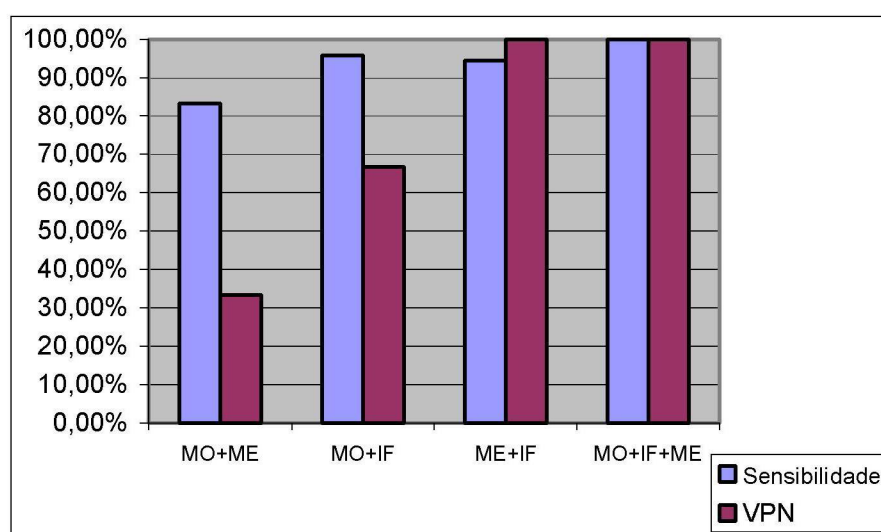
microscopia eletrônica obteve sensibilidade de 83,3% e valor preditivo negativo de 33,3%. Finalmente, apenas com a combinação dos achados pertinentes às três técnicas realizadas foram atingidos sensibilidade e valor preditivo negativo de 100% (Tabela 4 e Gráfico 2).

TABELA 4 – SENSIBILIDADE E VALOR PREDITIVO NEGATIVO DAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS UTILIZADAS

TÉCNICA	SENSIBILIDADE	VPN
TÉCNICAS ISOLADAS		
IF	95,6%	66,7%
MO	73,9%	60%
ME	44,4%	55,6%
TÉCNICAS COMBINADAS		
MO + ME	83,3%	33,3%
MO + IF	95,65%	66,7%
IF + ME	94,4%	100%
MO + IF + ME	100%	100%

VPN = Valor preditivo negativo; IF = Microscopia de imunofluorescência; MO = Microscopia óptica; ME = Microscopia eletrônica

GRÁFICO 2 - SENSIBILIDADE E VALOR PREDITIVO NEGATIVO DAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS UTILIZADAS



FONTE: Tabela 4

A categorização das lesões foi, segundo a classificação da OMS modificada, de dois casos como classe I (8%), 6 casos como classe II a (24%), 10 casos como classe II b (40%), um caso como classe III (4%) e 6 casos como classe V (24%). Na classificação da OMS, 1995, 2 casos foram alocados na classe I a (8%), 6 na classe I b (24%), 7 na classe II a (28%), 3 na classe II b (12%), 1 na classe III b (4%) e 6 na classe V b (24%). Na classificação proposta ISN/RPS, 2003, os dois casos categorizados como classe I da OMS modificada e I a da OMS, 1995 não encontraram categoria em que pudessem ser incluídos. Seis casos foram enquadrados como classe I (24%), 10 como classe II (40%), 1 como classe III (A) (4%) e 6 como classe V (24%) (Tabela 5 e Gráficos 3, 4 e 5).

TABELA 5 – ALOCAÇÃO DOS CASOS CONFORME AS CLASSIFICAÇÕES DA OMS MODIFICADA, OMS, 1995 E ISN/RPS, 2003

CLASSIFICAÇÃO	NÚMERO (n = 25)	PERCENTUAL
OMS, modificada		
• I	02	8,0
• II a	06	24,0
• II b	10	40,0
• III	01	4,0
• V	04	24,0
OMS, 1995		
• I a	02	8,0
• I b	06	24,0
• II a	07	28,0
• II b	05	12,0
• III b	01	4,0
• V	04	24,0
ISN/RPS, 2003		
• I	06	24,0
• II	10	40,0
• III (A)	01	4,0
• V	06	24,0
• NC	02	8,0

FONTE: dados da autora

GRÁFICO 3 - ALOCAÇÃO DOS CASOS NA CLASSIFICAÇÃO DA OMS MODIFICADA

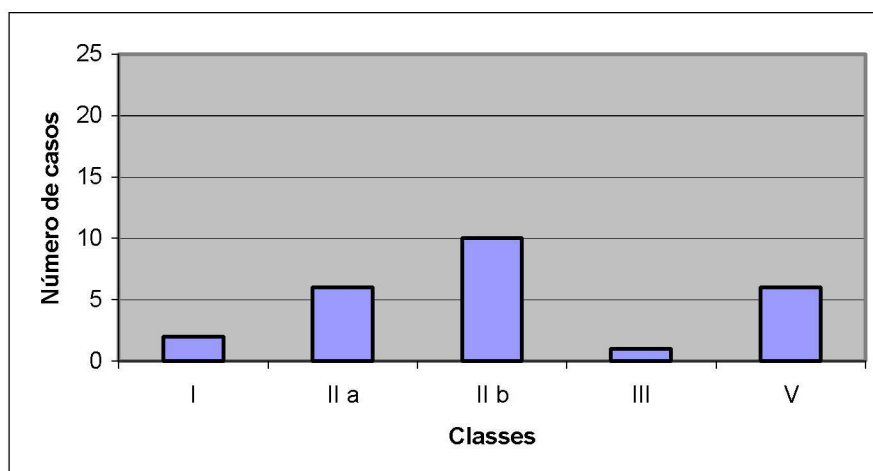


GRÁFICO 4 - ALOCAÇÃO DOS CASOS NA CLASSIFICAÇÃO DA OMS, 1995

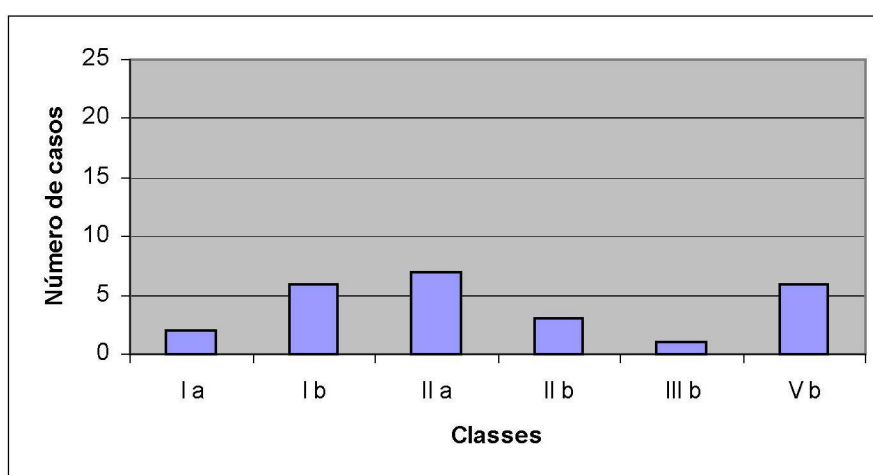
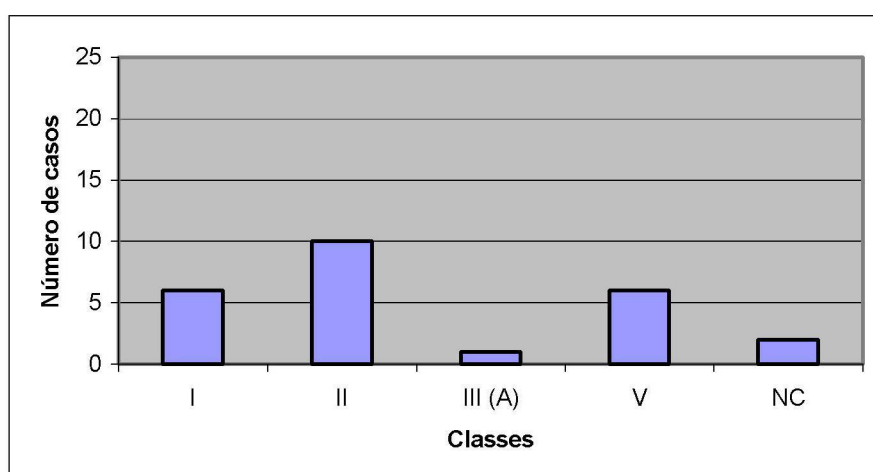


GRÁFICO 5 - ALOCAÇÃO DOS CASOS NA CLASSIFICAÇÃO DA ISN/ RPS, 2003



FONTE: Tabela 3

#### 5.4. SEGUIMENTO E EVOLUÇÃO DA DOENÇA

Os pacientes foram seguidos ambulatorialmente por  $58,4 \pm 26$  meses, (13-87 meses), em intervalos de 2 a 24 meses. No presente estudo a maioria dos pacientes (84,0%) não apresentou evolução ao evento ( $p < 0,0001$ ). Nas quatro pacientes que apresentaram evidências de comprometimento renal durante o seguimento, houve instalação de síndrome nefrótica, sedimento urinário ativo e discreta elevação da creatinina sérica. Tal evento se deu  $32 \pm 19,5$  meses (mínimo de 7 e máximo de 53 meses) após a biópsia e  $6 \pm 2,16$  anos após o diagnóstico inicial de LES (Tabela 6). Não houve registro de queda dos níveis de C3 abaixo de 80-90 mg/dl e dos níveis de CH50 abaixo de 68-108 unidades (valores padrão) associado a essas ocasiões.

TABELA 6 - DADOS DAS PACIENTES EM QUE HOUVE INSTALAÇÃO DE NEFRITE CLINICAMENTE APARENTE

DADOS	PACIENTE STS	PACIENTE CS	PACIENTE RPS	PACIENTE SO
Idade de início da doença	32	17	23	15
Tempo de evolução da doença (anos após diagnóstico)	0	7	5	1
Doença Extrarrenal	Mononeurite e TVP	Pele e articulações	Pele, articulações e Sjögren	Pele e articulações
OMS, modificada	II b	V	V	II b
OMS, 1995	II a	V b	V b	II a
ISN/RPS, 2003	II	V	V	II
Instalação de nefrite clinicamente aparente (meses após biópsia)	40	28	7	53
Tempo de seguimento (meses após biópsia)	70	71	13 (óbito)	79

FONTE: dados da autora.



Uma das pacientes em que se observou instalação de doença renal foi a êxito aos 30 anos, em decorrência de quadro séptico após celulite de membros superiores e inferiores. Registrou-se outro óbito em paciente do sexo masculino, aos 71 anos, após 23 meses de seguimento pós-biópsia, em decorrência de neoplasia maligna.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. DADOS DEMOGRÁFICOS

A população participante do presente estudo foi constituída em sua quase totalidade de mulheres (92%), cuja idade média atual foi de  $35,2 \pm 7,7$  anos, (mínima de 24 e máxima de 55 anos). Ao momento do diagnóstico de LES, as pacientes apresentavam, em média,  $24,7 \pm 7,3$  anos, variando de 15 a 47 anos.

Tais dados coincidem com os relatos de literatura, os quais colocam o LES como doença eminentemente de mulheres em idade reprodutiva. Segundo o Registro Espanhol de Glomerulonefrites (RIVERA, LOPEZ-GOMEZ e PEREZ-GARCIA, 2004), a nefrite lúpica é a única doença renal de diagnóstico histopatológico com maior prevalência em mulheres. Na experiência desse grupo, a nefrite lúpica é muito infreqüente em crianças e idosos. DONADIO *et al.* (1995), MAYOR e VILA (2003) e FONT *et al.* (2004) registraram, respectivamente, 77,7%, 95% e 89% de pacientes do sexo feminino, em coortes de 439 pacientes atendidos na Mayo Clinic (Rochester, Estados Unidos da América), 235 pacientes porto-riquenhos e 533 pacientes espanhóis portadores de LES. O estudo de DONADIO *et al.* (1995) e o estudo de FONT *et al.* (2004) revelaram idade média ao diagnóstico de 33 anos. Os estrogênios parecem desempenhar um importante papel na superexpressão de auto-antígenos endógenos e tal fato poderia explicar as diferenças notáveis na ocorrência da doença entre homens e mulheres (SEKIGAWA *et al.*, 2004).

### 6.2. DADOS CLÍNICOS

O grupo de pacientes estudado apresentou média de 2,4 sistemas comprometidos, sendo articulações (92%) e pele (88%) os mais freqüentemente envolvidos. Tais observações encontram similaridade com as de outros autores,

como WORRALL *et al.*, 1990, e FONT *et al.*, 2004, que encontraram, respectivamente, freqüências de comprometimento articular de 94% e 83% e freqüências de comprometimento cutâneo de 90% e 59%. O mesmo estudo de FONT *et al.* encontrou associações específicas de anemia hemolítica e altos níveis séricos de anticorpos anti-ds-DNA com doença renal ativa. Outro estudo realizado por FONT *et al.* em 1996, interessando especificamente os portadores de nefrite lúpica subclínica, mostrou que o envolvimento histopatológico renal estaria, nesses pacientes, mais freqüentemente associado a, novamente, anemia hemolítica e serosite. Com base nesses resultados, os autores sugeriam a biópsia renal nos pacientes sem comprometimento renal clínico-laboratorial, porém, com manifestações clínicas não cutâneo-articulares.

### 6.3. ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Os resultados obtidos em nosso estudo confirmam que a normalidade é a exceção em rins de portadores de LES. O achado de apenas 8% do total de casos analisados sem quaisquer anormalidades à microscopia óptica, eletrônica e de imunofluorescência corrobora a proposta da ISN/RPS de extinção da definição de classe I como “normal sob todas as técnicas”. Em nossa série, 92% dos pacientes foram definidos como portadores de nefrite subclínica, tendo se concentrado principalmente nas classes II e V da classificação da OMS modificada, nas classes I b, II e V b da classificação da OMS, 1995 e nas classes I, II e V da classificação proposta da ISN/RPS. Tais dados coincidem com os de ZABALETA-LANZ *et al.*, 2003, em cuja série de 42 pacientes, detectou 97,6% de portadores de nefrite subclínica, independentemente de idade, sexo, graus de atividade de doença extrarrenal ou tempo de evolução. Nessa mesma série, a classe II esteve presente em 64% dos pacientes e classe IV em apenas 7,7%.

As mais variadas hipóteses foram aventadas para tentar explicar a presença de alterações histopatológicas na ausência de manifestações clínicas. Segundo MAHAJAN *et al.*, (1977) a presença de imunocomplexos *per se* não seria suficiente para causar alterações inflamatórias e proliferativas. LEEHEY *et al.* (1982) ainda

responsabiliza a esteroidoterapia pela ocultação dos sinais clínicos e histopatológicos de nefropatia. Entretanto, os pacientes deste estudo e ainda a maioria dos constantes na metanálise realizada por GONZALEZ-CRESPO *et al.*, em 1996, estavam recebendo apenas baixas doses de prednisona antes da biópsia renal, o que provavelmente não interferiria com os achados histopatológicos renais.

Entre as técnicas utilizadas na avaliação do comprometimento histopatológico renal, a microscopia de imunofluorescência figurou como a mais sensível na detecção de depósitos de imunocomplexos, tendo, ao ser utilizada em conjunto com a microscopia óptica, elevada sensibilidade e elevado valor preditivo positivo no diagnóstico das lesões renais no LES. Os resultados de nossa série de casos parecem sugerir que, para a rotina diagnóstica, a combinação dos achados de microscopia de imunofluorescência e microscopia óptica, sejam suficientes e de adequado custo-benefício para confirmar o envolvimento renal pelo LES e classificar os achados histopatológicos. Nossas observações vão contra as sugestões de DATE *et al.*, 1998, que reservaria o emprego da microscopia de imunofluorescência ao material estocado, proveniente de pacientes com maiores probabilidades de se beneficiar desse procedimento, através da análise de seus dados clínicos e laboratoriais. A alta sensibilidade da microscopia de imunofluorescência, aliada ao baixo custo e maior disponibilidade dessa técnica em relação à microscopia eletrônica, reforça uma das alterações sugeridas pela ISN/RPS em 2003, que coloca a detecção de imunocomplexos à microscopia de imunofluorescência como capazes de diagnosticar a forma mais inicial de nefrite lúpica (classe I) (WEENING *et al.*, 2004).

A microscopia eletrônica mostrou menor sensibilidade, mas sua utilização isoladamente ou em combinação com outras técnicas resultou em elevado valor preditivo negativo. Pode-se atribuir a baixa sensibilidade alcançada por técnica, em nossa série de casos, à focalidade das lesões em nefrite lúpica incipiente, à baixa afinidade dos imunocomplexos às estruturas renais ou a uma alta constante de dissociação. Segundo HAAS (1997), a microscopia eletrônica teria um papel complementar aos papéis da microscopia óptica e de imunofluorescência, podendo estimar a atividade e o prognóstico da doença, com base no número e distribuição dos imunocomplexos. Há evidências indicando que a presença de depósitos

eletrondensos mesangiais aponte para doença mínima ou focal, com relativa inatividade. Em contraste, depósitos subendoteliais estariam relacionados a doença ativa proliferativa e depósitos subepiteliais poderiam estar ligados a doença de curso variável, porém de curso menos agressivo. Segundo DOMOTO *et al.*, (1980) a identificação de complexos subendoteliais, mesmo em portadores de nefrite lúpica subclínica, incorre na necessidade de seguimento cuidadoso do paciente. Porém, atualmente, três pontos norteiam hoje o uso da microscopia eletrônica de rotina em Patologia Renal. Em primeiro lugar, a pressão no ambiente médico para a redução dos custos com testes diagnósticos. Em segundo lugar, a ampla disponibilidade da microscopia de imunofluorescência como método rotineiro para a detecção de imunocomplexos. Obviamente, a combinação dos achados de microscopia óptica, eletrônica e de imunofluorescência levanta um terceiro ponto: a possibilidade de caracterização mais acurada de várias glomerulopatias, principalmente aquelas descritas nos últimos 25 anos, cujo diagnóstico se fundamentou nos achados dessas três técnicas (HAAS, 1997) .

#### 6.4. SEGUIMENTO E EVOLUÇÃO DA DOENÇA

No início do século XX, o LES era tido como uma doença “progressiva e de curso fatal”, com sobrevida média de 3 meses a 1 ano após o seu diagnóstico. A partir do fim da década de 1930, o prognóstico passou a ser pouco mais otimista. Uma revisão da literatura publicada entre 1948 e 1952 revelou uma mortalidade de 43% dos pacientes em 3 anos de doença. Porém, até 20% dos pacientes poderiam viver mais de 5 anos, com a possibilidade de longos períodos livres de doença. Atualmente, pacientes portadores de LES podem ter uma sobrevida superior a 95% em 5 anos (FIEHN *et al.*, 2003; BOURCHERS *et al.*, 2004, ALARCÓN *et al.*, 2004).

Com relação à nefrite lúpica, análises multivariadas em pacientes com características demográficas controladas realizadas por WARD, PYUN e STUDENSKI em 1996, demonstraram que instalação de nefrite (risco relativo de 2,34) e de crises convulsivas (risco relativo de 1,77) estariam associadas com menor sobrevida. Segundo esse mesmo autor, nesse mesmo estudo e em estudo

posterior (WARD, 2004) o risco de morte em associação a estas variáveis não mostrava diferenças estatisticamente significativas com relação à idade dos pacientes, sexo, grupo étnico ou características socioeconômicas. Segundo MANGER *et al.* (2002), parece haver uma redução pronunciada da sobrevida cumulativa estimada após a instalação de nefrite, tanto em adultos, quanto em crianças. A maior incidência de nefrite em pacientes negros e hispânicos, em comparação com os caucasianos, no grupo estudado por esse autor, poderia explicar algumas das diferenças observadas na sobrevida dentro desses grupos étnicos. Em várias análises realizadas, algumas variáveis avaliáveis pela biópsia emergem como fatores independentes preditores de mortalidade, como classe da OMS e os índices de atividade e cronicidade (NAJAFI e KORBET, 2001; ALARCÓN *et al.*, 2004; MIETTUNEN *et al.*, 2004).

Em nossa série, não foi estatisticamente significativa a frequência de pacientes que evoluíram à doença renal. Nossos dados, porém, foram comparáveis com a frequência observada no estudo de GONZALEZ-CRESPO, que registrou 10,4% de desenvolvimento de proteinúria e anormalidades do sedimento urinário em média de 51 meses de seguimento. Na opinião desses autores e ainda de ESDAILE *et al.* (1991) e AUSTIN e BALOW (1999), alterações histopatológicas leves raramente evoluem para alterações de maior gravidade; mesmo os pacientes portadores de nefrite lúpica subclínica com lesões proliferativas na biópsia inicial não tendem a desenvolver lesões de caráter mais ativo e difuso em avaliações subseqüentes. É interessante observar, também, que duas das quatro pacientes que apresentaram instalação de nefrite clinicamente aparente apresentavam comprometimento extrarrenal de outros órgãos/sistemas além do cutâneo-articular, o que vem de encontro ao observado por FONT *et al.*, 1996. Tais observações e os resultados obtidos em nossa série podem sugerir que a nefrite subclínica represente uma alteração esperada no curso do LES. Maiores estudos com relação a dados clínicos e sorológicos que possam prever a instalação de doença ativa ainda são necessários.

## 7. CONCLUSÕES

- Os resultados de nossa série de 25 pacientes demonstraram que a normalidade histopatológica renal é a exceção em portadores de LES.
- A maior parte dos pacientes se mostrou portadora de glomerulonefrites mesangial e membranosa iniciais, concentrando-se nas classes II e V da classificação da OMS modificada; classes Ib, II e V da classificação da OMS, 1995 e classes I, II e V da classificação da ISN/RPS, 2003.
- A microscopia de imunofluorescência foi a técnica de maior sensibilidade na detecção de alterações nos pacientes da série. A combinação dos achados da microscopia óptica, da microscopia eletrônica e da microscopia de imunofluorescência obteve 100% de sensibilidade e 100% de valor preditivo negativo no diagnóstico das alterações registradas. Aparentemente, porém, a combinação dos resultados da microscopia óptica e de imunofluorescência são suficientes para, na prática, obter-se a caracterização adequada da nefrite lúpica e para a tomada de decisões clínicas imediatas.
- Em nefrite lúpica subclínica, os achados histopatológicos, isoladamente, não são capazes de prever evolução ou progressão da doença. As alterações identificadas podem constituir uma alteração esperada no curso do LES, que não devem necessariamente evoluir para lesões proliferativas e ativas mais graves. Portanto, a biópsia renal parece ser procedimento de adoção questionável na rotina de investigação desse grupo de pacientes.

## GLOSSÁRIO DE TERMOS UTILIZADOS EM PATOLOGIA RENAL

Adesões/ sinéquias	- pontes de tecido conjuntivo entre as alças capilares glomerulares e a cápsula de Bowman.
Corpos hematoxilínicos	- inclusões azuladas e granulares, que correspondem a núcleos nus que foram alterados por ligação a ANAs.
Crescente	- proliferação celular extracapilar, ocupando o espaço urinário, composta de células epiteliais parietais, macrófagos e fibrina.
Depósitos em <i>wire loops</i> (“alças de arame”)	- alças capilares glomerulares de aspecto espesso e vítreo à MO, devido à presença de depósitos subendoteliais.
Difuso	- envolvendo mais de 50% dos glomérulos.
Esclerose	- Aumento de um ou mais dos componentes da matriz celular e tecido conjuntivo. As áreas de esclerose geralmente são positivas ao PAS com diastase, tricrômico e PAMS.
<i>Fingerprints</i>	- depósitos eletrondensos com subestruturas organizadas paracristalinas curvas.
Focal	- envolvendo menos de 50% dos glomérulos.
Global	- envolvendo o glomérulo todo, quando considerado individualmente.
Hialinose	- material acelular, eosinofílico à HE, positivo ao PAS com diastase, mas não corável ao PAMS. É composto de proteínas séricas, glicoproteínas e lipídios.
Hipercelularidade intracapilar:	- o critério estrito requer dois ou mais núcleos de células mesangiais em uma mesma área mesangial periférica e matriz de volume superior à soma dos diâmetros desses núcleos.
Inclusões túbulo-	- estruturas tubulares interanastomosantes de 24 nanômetros,



reticulares	usualmente localizadas nas cisternas dilatadas no retículo endoplasmático de células endoteliais.
Interposição mesangial	- alargamento do mesângio para os espaços vasculares, com aspecto de invasão ao espaço subendotelial.
Intramembranoso	- contido na membrana basal.
Linear	- delineando as membranas basais das alças periféricas glomerulares, mas não o mesângio.
Mesangiólise	- colapso do mesângio, com perda dos limites anatômicos e da matriz corável.
Microangiopatia trombótica	- trombos de fibrina em luzes capilares glomerulares, pequenas artérias e arteríolas.
Necrose	- destruição da arquitetura, associada a hipereosinofilia e cariorrexe.
Obsolescência	- perda total da arquitetura glomerular por esclerose.
Segmentar	- envolvendo porções de glomérulos, quando considerados individualmente.
Subendotelial	- entre a membrana basal do capilar glomerular e o endotélio.
Subepitelial ou epimembranoso	- localizado entre a membrana basal do capilar glomerular e o epitélio visceral (podócitos).
“Trilhos de trem” ( <i>tram tracks</i> )	- duplo contorno das alças capilares glomerulares, mais evidente ao PAMS, causado por interposição mesangial.
Trombos hialinos	- depósitos subendoteliais maciços, que protruem e ocluem os lumens dos capilares glomerulares.
Vasculopatia lúpica	- depósitos arteriolares de imunocomplexos e fibrina, usualmente sem componente inflamatório acompanhante. Costumam cursar com prognóstico bastante sombrio.

FONTE: STRIKER, STRIKER e D'AGATI, 1997; NADASDY e SILVA, 1999.

## REFERÊNCIAS

- ABRASS, C.K. Mechanisms of immune complex formation and deposition in renal structures. In NEILSON, EG, COUSER WG. **Immunologic Renal Diseases**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 291-308.
- ADLER, S.G; COHEN, A.H; GLASSOCK, R.J. Secondary Glomerular Diseases. In BRENNER BM. **The Kidney**. 5. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996. p. 1498-1596
- ALARCÓN, G.S; ROSEMAN, J.M; MCGWIN JR, G; URIBE, A; BASTIAN, H.M; FESSLER, B.J; BAETHGE, B.A; FRIEDMAN, A.W; REVEILLE, J.D. Systemic lupus erithematosus in three ethnic groups. XX. Damage as a predictor of further damage. **Rheumatology**. v 43, p. 202-205, 2004.
- ALMEIDA, R.V. **Microalbuminúria e estudo morfológico renal na avaliação de pacientes com lupus eritematoso sistêmico sem comprometimento renal clínico-laboratorial**. Curitiba, 1998. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre. Pós-graduação em Medicina Interna, SCS, UFPR.
- ANTONOVICH, T.T. **Pathology of Systemic Lupus Erithematosus**. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology. 1995.
- APPEL, G.B; D'AGATI V. Lupus Nephritis. In MASSRY SG, GLASSOCK RJ. **Textbook of Nephrology**. 3. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1995. p. 787-796.
- APPEL, G.B; SILVA, F.G; PIRANI, C.L; MELTZER, J.I; ESTES, D. Renal involvement in systemic lupus erythematosus (SLE): a study of 56 patients emphasizing histologic classification. **Medicine (Baltimore)**. v. 57, n.5, p. 371-410, 1978.
- AUSTIN, H.A; BALOW, J.E. Natural history and treatment of lupus nephritis. **Seminars in Nephrology** v 19, n. 1, p. 2-11, 1999.
- AUSTIN, H.A; BOUMPAS, D.T; VAUGHAN, E.M; BALOW, J.E. Predicting renal outcomes in severe lupus nephritis: contribution of clinical and histological data. **Kidney International** v. 45, n. 2, p. 544-50, 1994.
- AUSTIN, H.A; MUENZ, L.R; JOYCE, K.M; ANTONOVICH, T.A; KULLICK, M.E; KLIPPEL, J.H; DECKER, J.L; BALOW, J.E. Prognostic factors in lupus nephritis: contribution of renal histologic data. **American Journal of Medicine**. v. 75, n. 3, p. 382-391, 1983.
- BALDWIN, D.S; LOWENSTEIN, J; ROTHFIELD, N.F; GALLO, G; MCCLUSKEY, R.T. The clinical course of the proliferative and membranous forms of lupus nephritis. **Annals of Internal Medicine**. v. 73, n. 6, p. 929-42, 1970.

BENNETT, W.M; BARDANA, E.J; NORMAN, D.J; HOUGHTON, D.C. Natural history of silent lupus nephritis. **American Journal of Kidney Diseases**. v. May 1, n. 6, p. 359-363, 1982.

BLANCO, F.J.; DELAMATA, J.; LÓPEZ-FERNANDEZ, J.I.; GOMEZ-REINO, J.J. Light, immunofluorescence and electron microscopy findings as predictors of mortality in eighty-five spanish patients with systemic lupus erithematosus **British Journal of Rheumatology** v.33, p.260-266, 1994.

BORCHERS, A.T; KEEN, C.L; SHOENFELD, Y; GERSHWIN, M.E. Surviving the butterfly and the wolf: mortality trends in systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity Reviews**. v. 3, p. 423-453, 2004.

CAMERON, J.S. Lupus Erithematosus. In NEILSON, EG, COUSER WG. **Immunologic Renal Diseases**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 1055-1098.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION AND WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Epi-Info. Version 6.04b. A Word Processing, Database and Statistics Program for Public Health**. Janeiro, 1997.

CHURG, J; SOBIN, L.H. **Renal Disease: Classification and Atlas of Glomerular Diseases**. New York, Tokyo: Igaku-Shoin, 1982.

CHURG, J; BERNSTEIN, J; GLASSOCK, R.J. **Renal disease: classification and atlas of glomerular diseases**. 2. ed. New York, Tokyo: Igaku-Shoin, 1995.

COLLINS, A.B. Immunofluorescence. In: COLVIN, R.B.; BHAN, A.K.; MC CLUSKEY, R.T. **Diagnostic Immunopathology**. 2. ed, New York: Raven Press, 1995. p. 699-709.

COOPER, G.S; STROEHLA, B.C. The epidemiology of autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**. v. 2, n. 3, p. 119-125, 2003.

DATE, A; DAKSHINAMURTHY, D.S; JACOB, C.K; SHASTRY, J.C.M. The effect on patient management of temporary non-availability of immunofluorescence for renal biopsy reporting **Journal of Clinical Pathology**. v. 51. p. 337-9, 1998.

D'AGATI, V. Renal diseases in systemic lupus erithematosus, mixed connective tissue disease, Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. In JENNETTE, J.C; OLSON, J.L; SCHWARTZ, M.M; SILVA, F.G. **Heptinstall's Pathology of the Kidney**. 5.ed, Philadelphia, New York: Lippicott-Raven, 1998. p. 541-624.

DOMOTO, D.T; KASHGARIAN, M; HAYSLETT, J.P; ADLER, M; SIEGEL, N.J. The significance of electron dense deposits in mild lupus nephritis **The Yale Journal of Biology and Medicine** v.53, p.317-324, 1980.

DONADIO Jr, J.V.; Hart G.M.; Bergstralh, E.J. Holley, K.E. Prognostic determinants in lupus nephritis: a long term clinicopathologic study. **Lupus**. v. 4, n. 2, p. 109-115, 1995.

ESDAILE, J.M; FEDERGREEN, W; QUINTAL, H; SUISSA, S; HAYSLETT, J.P; KASHGARIAN, M. Predictors of one year outcome in lupus nephritis: the importance of renal biopsy. **Quarterly Journal of Medicine**. v. 81, n. 295, p. 907-918, 1991

FERLUGA, D; JERSE, M; VIZJAK, A; HVALA, A; ROZMAN, B; KOS-GOLJA, M; BREN, A.F. Correlation among WHO classes, histomorphologic patterns of glomerulonephritis and glomerular immune deposits in SLE. **Wiener Klinischer Wochenschrift**. v. 25, n.112, p. 692-701, 2000.

FIEHN, C; HAJJAR, Y; MUELLER, K; WALDHERR, R; HO, A.D; ANDRASSY, K. Improved clinical outcome of lupus nephritis during the past decade: importance of early diagnosis and treatment. **Annals of Rheumatic Diseases**. v. 62, n.5, p. 435-439, 2003.

FOGO, A.B. Approach to renal biopsy. **American Journal of Kidney Diseases**. v 42, n. 4, p. 826-836, 2003.

FONT, J; CERVERA, R; RAMOS-CASALS, M; GARCIA-CARRASCO, M; SENTIS, J; HERRERO, C; DEL OLMO, J.A; DARNELL, A; INGELMO, M. Clusters of clinical and immunologic features in systemic lupus erythematosus: analysis of 600 patients from a single center. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. v 33, n. 4, p. 217-230, 2004.

FONT, J; TORRAS, A; CERVERA, R; DARNELL, A; REVERT, L; INGELMO, M. Silent renal disease in systemic lupus erythematosus. **Clinical Nephrology**. v. 27, n. 6, p. 283-238, 1987.

GLANZ, S.A. **Primer of Biostatistics - Version 4.0**. 4. ed. New York: McGraw Hill, 1997.

GONZALEZ-CRESPO, M; LOPEZ-FERNANDEZ, J.I; USERA, G; POVEDA, M.J; GOMEZ-REINO, J.J. Outcome of silent lupus nephritis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. v. 26, n.1, p. 468-76, 1996.

GLASSOCK, R.J. Reclassification of Lupus Glomerulonephritis: Back to the Future **Journal of the American Society of Nephrology**. v. 15, p. 501-503, 2004.

GRANDE, J.P; BALLOW, J.E. Renal biopsy in lupus nephritis **Lupus** v.7, p.611-617, 1998

GRISHMAN, E; PORUSH, J.G; LEE, S.L; CHURG, J. Renal biopsies in lupus nephritis. Correlation of electron microscopic findings with clinical course. **Nephron**. v. 10, n. 1, p. 25-36, 1973

HAAS, M. A reevaluation of routine electron microscopy in the examination of native renal biopsies **Journal of the American Society of Nephrology** v.8, p.70-76, 1997

HERRERA, G. The value of electron microscopy in the diagnosis and clinical management of lupus nephritis **Ultrastructural Pathology** v.23, p.63-67, 1999.

HILL, G.S; DELAHOUSSE, M; NOCHY, D; TOMKIEWICZ, E; REMY, P; MIGNON, F; MÉRY, J.F. A new morphologic index for the evaluation of renal biopsies in lupus nephritis. **Kidney International**. v. 58, p. 1160-1173, 2000.

HOLLCRAFT, R.M; DU BOIS, E; LUNDBERG, G. Renal damage in systemic lupus erythematosus with normal renal function. **Journal of Rheumatology**. v. 3, n. 3, p. 251-261, 1976.

ISEKI, K; MIYASATO, F; UEHARA, H; TOKUYAMA, K; TOMA, S; NISHIME, K; YOSHI, S; SHIOHIRA, Y; OURA, T; TOZAWA, M; FUKIYAMA, K. Outcome study of renal biopsy patients in Okinawa, Japan. **Kidney International**. v. 66, n. 3, p. 914-919, 2004.

KASHGARIAN, M. Morphologic Evaluation of Immunologic Renal Diseases. In NEILSON, E.G; COUSER, W.G. **Immunologic Renal Diseases**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 837-860

KARK, R.M; MUEHRCKE, R.C; PIRANI, C.L; POLLAK, V.E. The clinical value of renal biopsy. **Annals of Internal Medicine**. v. 43, n. 8, p. 807-847, 1955

LEEHEY, D.J; KATZ, A.I; AZARAN, A.H; Silent diffuse lupus nephritis: long- term follow-up. **American Journal of Kidney Diseases**. v. 1, p. 359-363, 1982.

LEWIS, E.J; KAWALA, K; SCHWARTZ, M.M. Histologic features that correlate with the prognosis of patients with lupus nephritis. **American Journal of Kidney Diseases**. v. 10, n. 3, p.192-197, 1987.

LOPEZ, P; MOZO, L; GUTIERREZ, C; SUAREZ, A. Epidemiology of systemic lupus erythematosus in a northern Spanish population: gender and age influence on immunological features. **Lupus**. v. 12, n. 11, p. 860-865, 2003.

MAHAJAN, S.K; ORDOÑEZ, N.G; FEITELSON, P.J; LIM, V.S; SPARGO, B.H; KATZ, A.I. Lupus nephropathy without clinical renal involvement. **Medicine (Baltimore)**. v. 56, n. 6, p. 493-501, 1977.

MARCUSSEN, N; OLSEN, S; LARSEN, S; STARKLINT, H; THOMSEN, O.F. Reproducibility of the WHO classification of glomerulonephritis. **Clinical Nephrology**. v. 44, n. 4, p. 220-224, 1995.

MANGER, K; MANGER, B; REPP, R; GEISSELBRECHT, M; GEIGER, A; PFAHLBERG, A. et al. Definition of risk factors for death, end stage renal disease,

and thromboembolic events in a monocentric cohort of 338 patients with systemic lupus erythematosus. **Annals of Rheumatic Diseases**. v. 61, p. 1065-1070, 2002.

MAYOR, A.M; VILA, L.M. Gender differences in a cohort of Puerto Ricans with systemic lupus erythematosus. **Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand)**. v 49, n. 8, p. 1339-1344, 2003.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 3 ed. São Paulo: Michalany, 1998.

MIETTUNEN, P.M; ORTIZ-ALVAREZ, O; PETTY, R.E; CIMAZ, R; MALLESON, P.N; CABRAL, D.A; ENSWORTH, S; TUCKER, L.B. Gender and ethnic origin have no effect on longterm outcome of childhood-onset systemic lupus erythematosus. **Journal of Rheumatology**. v. 31, n. 8, p. 1650-1654, 2004.

MITTAL, B; HURWITZ, S; RENNKE, H; SINGH, A.K. New subcategories of class IV lupus nephritis: are there clinical, histologic, and outcome differences? **American Journal of Kidney Diseases**. v. 44, n. 6, p. 1050-1059, 2004.

MOREL-MAROGER, L.; MERY, J.; DROZ, D. GODIN, M.; VEROUST, P.; KOURILSKY, O.; RICHET, G. The course of lupus nephritis. Contribution of serial renal biopsies. **Advances in Nephrology from the Necker Hospital**. v. 76, n. 6, p. 79-118, 1976.

MUEHRCKE, R.C; KARK, R.M; PIRANI, C.L; POLLAK, V.E. Lupus nephritis: a clinical and pathological study based on renal biopsies. **Medicine (Baltimore)**. v. 36, n. 1, p. 1-145, 1957.

NADASDY, T.; SILVA, F.G. Nonneoplastic Adult Renal Diseases. In: ANTONIOLI, D.D.; CARTER, D.; MILLS, S.E.; OBERMAN, H.A.; SINARD, J.H. **Sternberg Diagnostic Surgical Pathology**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 1999. Versão eletrônica

NAJAFI, C.C; KORBET, S.M. Significance of histologic patterns of glomerular injury upon long term prognosis in severe lupus nephritis. **Kidney International**. v. 59, n.6, p. 2156-2163, 2001.

O'DELL, J.R; HAYS, R.C; GUGGENHEIM, S.J; STEIGERWALD, J.C. Systemic lupus erythematosus without clinical renal abnormalities: renal biopsy findings and clinical course. **Annals of Rheumatic Diseases**. v. 44, n. 6, p. 415-419, 1985.

PAGANO, M; GAUVREAU, K. **Princípios da Bioestatística**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2004.

POLLAK, V.E.; PIRANI, C.L.; DUJOVNE, I.; DILLARD, M.G. **The clinical course of lupus nephritis: relationship to the renal histologic findings**. Perspectives in Nephrology and Hypertension. v. 1, pt. 2, p. 1167-1181, 1973.

POLLAK, V.E.; PIRANI, C.L. Renal histologic findings in systemic lupus erithematosus. **Mayo Clinic Proceedings**. v. 44, n. 9, p. 630-44, 1969.

POLLAK, V.E.; PIRANI, C.L.; SCHWARTZ, F.D. Clinical and experimental. The natural history of the renal manifestations of systemic lupus erithematosus. 1964. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. v. 116, n. 6, p. 889-902, 1990.

RASOULPOUR, M; BANCO, L; LAUT, J.M; BURKE, G.S. Inability of community-based laboratories to identify pathological casts in urine samples. **Archives of Pediatric and Adolescence Medicine**. v. 150, n. 11, p. 1201-1204, 1996.

RIVERA, F; LOPEZ-GOMEZ, J.M; PEREZ-GARCIA, R. Clinicopathologic correlations of renal pathology in Spain. **Kidney International**. v. 66, n. 3, p. 898-904, 2004.

ROSE, B.D. Indications for and complications of renal biopsy. **Up to Date 2003**. Disponível em <<http://www.uptodate.com>>. Acesso em 25 de novembro de 2003.

ROSE, B.D; APPEL, G.B; SCHUR, P.H. Types of renal disease in systemic lupus erithematosus. **Up to Date 2003** Disponível em <<http://www.uptodate.com>>. Acesso em 25 de novembro de 2003.

RUIZ, P.; FAJARDO, C.; HERNANDEZ, I. **Immunofluorescence Procedure Manual**. Department of Pathology Specialty Services. University of Miami School of Medicine. Miami, Estados Unidos, 2002.

SCHWARTZ, M.M. The Holy Grail: pathological indices in lupus nephritis. **Kidney International**. v. 58, n. 3, p. 1354-1355, 2000.

SCHWARTZ, M.M; LEWIS, E.J. Rewriting the histological classification of lupus nephritis. **Journal of Nephrology**. v. 15, p. S11-S19, 2002, Suplemento 6.

SEKIGAWA, I; NAITO, T; HIRA, K; MITSUISHI, K; OGASAWARA, H; HASHIMOTO, H; OGAWA, H. Possible mechanisms of gender bias in SLE: a new hypothesis involving a comparison of SLE with atopy. **Lupus**. v 13, n. 4, p. 217-222, 2004.

SILVA, F.G. The nephropathies of systemic lupus erithematosus. In ROSEN S. **Pathology of glomerular disease**. New York: Churchill-Livingstone. 1983. p. 79-124.

SINNIAH, R; FENG, P.H. Lupus nephritis: correlation between light, electron microscopic and immunofluorescent findings and renal function. **Clinical Nephrology**. v. 6, n. 2, p. 340-351, 1976.

STRIKER, G; STRIKER, L.J; D'AGATI, V. **Major problems in pathology: the renal biopsy**. 3. ed W.B. Philadelphia: Saunders, 1997.

SU, C.F; CHEN, H.H; YEH, J.C. Ultrastructural 'fingerprint' in cryoprecipitates and glomerular deposits: A clinicopathologic analysis of fingerprint deposits. **Nephron**. v.90, p. 37-42, 2002.

VIEIRA, S. Bioestatística: tópicos avançados. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

WARD, M.M, PYUN, E; STUDENSKI, S. Mortality risks associated with specific clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. **Archives of Internal Medicine**. v. 156, n. 12, p. 1337-1344, 1996.

WARD, M.M. Education level and mortality in systemic lupus erythematosus (SLE): evidence of underascertainment of deaths due to SLE in ethnic minorities with low education levels. **Arthritis & Rheumatism**. v. 51, n. 4, p. 616-24, 2004.

WEENING, J.J; D'AGATI, V.D; SCHWARTZ, M.M; SESHAN, S.V; ALPERS, C.E; APPEL, G.B; BALOW, J.E; BRUIJN, J.A; COOK, T; FERRARIO, F; FOGO, A.B; GINZLER, E.M; HEBERT, L; HILL, G; HILL, P; JENNETTE, J.C; KONG, N.C; LESAVRE, P; LOCKSHIN, M; LOOI, L.M; MAKINO, H; MOURA, L.A; NAGATA, M. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. **Kidney International**. v. 65, n. 2, p. 521-530, 2004.

WEENING, J.J; D'AGATI, V.D; SCHWARTZ, M.M; SESHAN, S.V; ALPERS, C.E; APPEL, G.B; BALOW, J.E; BRUIJN, J.A; COOK, T; FERRARIO, F; FOGO, A.B; GINZLER, E.M; HEBERT, L; HILL, G; HILL, P; JENNETTE, J.C; KONG, N.C; LESAVRE, P; LOCKSHIN, M; LOOI, L.M; MAKINO, H; MOURA, L.A; NAGATA, M. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. **Journal of the American Society of Nephrology**. v. 15, n. 2. p. 241-250, 2004.

WERNICK, R.M; SMITH, D.L; HOUGHTON, D.C; PHILLIPS, D.S; BOOTH, J.L; RUNCKEL, D.N; JOHNSON, D.S; BROWN, K.K; GABOURY, C.L. Reliability of histologic scoring for lupus nephritis: a community-based evaluation. **Annals of Internal Medicine**. v. 119, n. 8, p. 907-918, 1993.

WOOLF, A; CROCKER, B; OSOFSKY, S.G; KREDICH, D.W. Nephritis in children and young adults with systemic lupus erythematosus and normal urinary sediment. **Pediatrics**. v. 64, n. 5, p. 678-685, 1979.

WORRALL, J.G.; SNAITH M.L.; BATCHELOR, J.R.; ISENBERG, D.A. SLE: a rheumatological view. Analysis of the clinical features, serology and immunogenetics of 100 SLE patients during long-term follow-up. **Quarterly Journal of Medicine**. v. 74,n.275,p.319-330,1990.

YOKOYAMA, H; WADA, T; HARA, A; YAMAHANA, J; NAKAYA, I; KOBAYASHI, M; KITAGAWA, K; KOKUBO, S; IWATA, Y; YOSHIMOTO, K; SHIMIZU, K; SAKAI, N; FURUICHI, K. The outcome and a new ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis in Japanese. **Kidney International**. v. 66, n. 6, p. 2382-2388, 2004.



YOO, C.W; KIM, M.K; LEE, H.S. Predictors of renal outcome in diffuse proliferative lupus nephropathy: data from repeat renal biopsy. **Nephrology Dialysis Transplantation.** v 15, n. 10, p. 1604-1608, 2000.

ZABALETA-LANZ, M; VARGAS-ARENAS, R; TAPANES, F; DABOIN, I; ATAHUALPA-PINTO, J; BIANCO, N.E. Silent nephritis in systemic lupus erythematosus. **Lupus.** v. 12, n. 1, p. 26-30, 2003.

## ANEXOS

### ANEXO 1 – METODOLOGIA DO PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO MANUAL DE ROTINA

#### I – Materiais

- 1- cápsula plástica ou metálica para acondicionamento de amostra
- 2- lâminas
- 3- lamínulas
- 4- álcool etílico
- 5- clorofórmio
- 6- parafina para inclusão histológica
- 7- verniz para montagem
- 8- papel absorvente

#### II – Procedimento

- 1- Envolver a amostra em papel absorvente e acondicioná-la na cápsula plástica ou metálica com a devida identificação
- 2- Desidratar o material em concentrações crescentes sucessivas de álcool
  - álcool 50% - 20 min
  - álcool 70% - 20 min
  - álcool 95% - 20 min
  - álcool 95% - 20 min
  - álcool 100% - 20 min
  - álcool 100% - 20 min
  - álcool 100% - 20 min
- 3- Diafanizar em clorofórmio P.A., duas trocas de 30 minutos cada
- 4- Imergir em parafina a 67°C por 2h
- 5- Incluir o material em parafina em molde metálico
- 6- Submeter o bloco a microtomia, em espessura de 2-3 micrômetros; distender os cortes e estendê-los sobre as lâminas
- 7- Corar os cortes e montar as preparações com verniz e lamínulas.

## **ANEXO 2 – METODOLOGIA DO PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA MICROSCOPIA DE IMUNOFLUORESCÊNCIA**

### **I – Reagentes**

1- Anticorpos utilizados: os anticorpos abaixo relacionados são adquiridos já conjugados ao isotiocianato de fluoresceína (FITC) e utilizados nas seguintes diluições em tampão fosfato (PBS).

- anti IgG – 1:500
- anti IgM – 1:250
- anti IgA – 1:250
- anti C3 – 1:250

2- Tampão fosfato (PBS) – para a obtenção de 2500 ml:

- fosfato dibásico de sódio – 80 ml
- fosfato monobásico de sódio – 20 ml
- cloreto de sódio – 21 g
- água destilada – volume suficiente para 2500 ml – manter pH 7,2 a 7,4

### **II – Materiais**

- 1- lâminas
- 2- lamínulas
- 3- nitrogênio líquido
- 4- acetona
- 5- glicerina tamponada para montagem
- 6- papel alumínio para criomolde
- 7- criostato
- 8- bandeja para incubação
- 9- papel absorvente

### **III – Procedimento**

- 1- Incluir o fragmento em OCT (TissueTek, Toquio, Japão) e imergir o criomolde em nitrogênio líquido até a solidificação do OCT.
- 2- Seccionar o bloco obtido em criostato, obtendo-se cortes de 2-3 micrômetros de espessura. Armazenar o bloco a  $-70^{\circ}\text{C}$ , cobrindo-se o tecido remanescente com OCT.
- 3- Identificar cada lâmina conforme o reagente a ser disposto. Secar os cortes ao ar por 3 minutos.
- 4- Fixar os cortes por imersão em acetona por 15 minutos.
- 5- Transferir as lâminas para o PBS e realizar 3 lavagens de 5 minutos cada.
- 6- Remover as lâminas do tampão, evitando-se a secagem das mesmas. Retirar o excesso de tampão em volta do corte tissular, circulá-lo com caneta isolante ou esmalte e pingar uma a duas gotas de anti-soro sobre o tecido. Transferir as lâminas para uma câmara úmida e incubar em temperatura ambiente por 30-45 minutos.
- 7- Transferir as lâminas para o PBS e realizar 3 lavagens de 5 minutos cada.
- 8- Cobrir com lamínulas usando glicerina tamponada para montagem.

## **ANEXO 3 – METODOLOGIA DO PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA**

### **I – Reagentes**

- 1- Solução de glutaraldeído 3%
- 2- Tetróxido de ósmio ( $\text{OsO}_4$ ) 1%, solução tamponada em cacodilato de sódio
- 3- Acetato de uranila 2%
  - 2g uranila
  - 100 ml de água destilada

Agitar antes de usar. Proteger da luz. Validade de 20 dias.

- 4- Citrato de chumbo
  - 0,266 g de nitrato de chumbo
  - 0,352 g de citrato de sódio
  - 5 ml de água destilada morna

Dissolver os reagentes acima e deixar descansar por 30 min. Adicionar então 1,6 ml de NaOH e mais 5 ml de água destilada. Centrifugar por 1h. Validade de 30 dias.

### **II – Materiais**

- 1- Resina plástica para emblocamento
- 2- Óxido de propileno
- 3- Moldes de silicone para emblocamento
- 4- Estufa
- 5- Navalha de diamante
- 6- Ultramicrótomo
- 7- Grátículas de 200 *mesh*
- 8- Papel absorvente e/ou papel filtro
- 9- Luvas de procedimento

### **III – Procedimento**

- 1- Lavar três vezes a amostra pré-fixada em tampão cacodilato de sódio 0,1M.
- 2- Pós-fixar o material em tetróxido de ósmio aquoso 1% por 2-4h.
- 3- Realizar três lavagens em água destilada.

- 4- Transferir o material para solução de acetato de uranila 2% *overnight*.
- 5- Lavar em água destilada.
- 6- Desidratar o material em concentrações crescentes sucessivas de álcool
  - álcool 70% - 10 min
  - álcool 80% - 10 min
  - álcool 90% - 10 min
  - álcool 100% - duas trocas de 10 min cada
- 7- Transferir o material para óxido de propileno. Duas trocas de 10 min.
- 8- Imergir o material em mistura de óxido de propileno e resina plástica 3:1 por uma hora.
- 9- Imergir o material em mistura de óxido de propileno e resina plástica 1:1 por uma hora.
- 10- Imergir o material em mistura de óxido de propileno e resina plástica 1:3 *overnight*. Repetir esse passo no dia seguinte.
- 11- Emblocamento em resina pura e curagem dos blocos em estufa 60°C *overnight*.
- 12- Ultramicrotomia com navalha de diamante, obtendo-se cortes de 0,08 a 0,12 micrômetros de espessura. Colher as seções com grátícula de 0,4 mm, padrão 200 *mesh*.
- 13- Sobre uma placa de Petri, contendo uma gota de acetato de uranila 2%, colocar a grátícula com a seção tissular voltada para baixo por 20 min. Proteger a operação da incidência da luz.
- 14- Retirar o excesso de corante com água destilada. Absorver a água excedente com papel filtro.
- 15- Sobre uma gota de NaOH, colocar uma gota de citrato de chumbo, numa placa de Petri. Posicionar a grátícula sobre a gota da solução e manter por 3 min.
- 16- Lavar em água destilada por 3 vezes. Absorver a água excedente com papel filtro.

## **ANEXO 4 – METODOLOGIA DO PROCEDIMENTO PARA DESPARAFINIZAÇÃO DE MATERIAL HISTOLÓGICO PARA EXAME ULTRAESTRUTURAL**

### **Procedimento**

- 1- Remover a amostra tecidual do bloco de parafina com um estilete.
  - 2- Imergir o material em xilol puro por 1h30min em estufa a 60-70°C. Trocar o xilol e repetir o procedimento.
  - 3- Remover o material do xilol. Submeter o tecido à seqüência de soluções de álcool abaixo:
    - álcool 100% - quatro trocas de 30 min cada
    - álcool 90% - 30 min
    - álcool 80% - 30 min
    - álcool 70% - 30 min
  - 4- Lavar em água ou tampão PBS.
- Fixar em glutaraldeído 3% por 2-24 h. Segue-se o processamento normal para microscopia eletrônica.